

Aus der Dermatologischen Universitätsklinik
in Marburg

Direktor: Professor Dr. O. BRAUN-FALCO

Tierexperimentelle Untersuchungen über den
Einfluß von Cyclophosphamid (Endoxan) auf
die akute und chronische Entzündung

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES
DER GESAMTEN MEDIZIN DER
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER PHILIPPS-UNIVERSITÄT MARBURG

Vorgelegt von
Günter Burg aus Mayen

MARBURG 1968

Aus der Dermatologischen Universitätsklinik in Marburg
Direktor: Professor Dr. O. BRAUN-FALCO

Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß von
Cyclophosphamid (Endoxan) auf die akute und chronische
Entzündung

INAUGURALDISSERTATION ZUR ERLANGUNG DES DOKTORGRADES
DER GESAMTEN MEDIZIN DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER PHILIPPS-UNIVERSITÄT MARBURG

vorgelegt von
Günter Burg
aus Mayen
Marburg 1968



Angenommen von der Medizinischen Fakultät der Universität Marburg am 19. 12. 1968

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

DEKAN: Prof. Dr. W. STRAUB

REFERENT: Prof. Dr. O. BRAUN-FALCO

CORREFERENT: Prof. Dr. W. SCHMID

Für die freundliche Überlassung des Themas der vorliegenden Dissertation, für Rat und Hilfe bei der Durchführung der Untersuchungen bin ich Herrn Professor Dr. O. BRAUN-FALCO und Herrn Privatdozent Dr. G. RASSNER zu Dank verpflichtet.

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554409_0026

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
1.1. Entzündung	1
1.1.1. Akute Entzündung	2
1.1.2. Chronische Entzündung	8
1.2. Bedeutung der Entzündung für den Organismus	9
1.3. Antientzündliche Therapie	10
1.4. Näheres über Stickstofflost und Cyclophosphamid (Endoxan)	12
1.5. Klinische Erfahrungen zur antient- zündlichen Wirksamkeit der Cytosta- tica	14
2. METHODIK	17
2.1. Tiermaterial	17
2.2. Akute Entzündung	17
2.2.1. Entzündungsmodell	17
2.2.2. Messung der akut-entzündlichen Reaktion	18
2.2.3. Durchführung der cytostatischen Behandlung	21
2.3. Chronische Entzündung	22
2.3.1. Entzündungsmodell	22
2.3.2. Messung der chronisch entzündli- chen Reaktion	23
2.3.3. Durchführung der cytostatischen Behandlung	23
2.4. Statistik	24
2.4.1. Akute Entzündung Statistische Analyse der Meßwerte	24
2.4.2. Chronische Entzündung	26
2.4.2.1. Meßwerttabelle	26

	Seite
2.4.2.2. Tabellen und Diagramme	26
2.4.2.3. Statistische Analyse der Meßwerte	27
2.4.3. Abkürzungen	27
3. EIGENE ERGEBNISSE	29
3.1. Akute Entzündung	29
3.1.1. Beeinflussung der akuten Ent- zündung durch Cyclophosphamid	29
3.1.2. Korrelation von Tiergewicht und Schwellungsmaximum	30
3.1.3. Rhythmik der entzündlichen Schwellung	31
3.1.4. Zusammenfassende Übersicht über die wichtigsten Ergebnisse zum Einfluß von Cyclophosphamid auf die akute Entzündung	34
3.2. Chronische Entzündung	34
3.2.1. Beeinflussung der chronischen Entzündung durch Cyclophosphamid	35
3.2.2. Wirksamkeit des Cyclophosphamid bei fraktionierter- und bei Stoß- applikation	37
3.2.3. Beeinflussung der Proliferation und Exsudation durch Cyclophos- phamid	38
3.2.4. Korrelation von Tiergewicht und Entzündungsstärke	38
3.2.5. Streubreite der Granulomflüssig- keitsgewichte bei Versuchs- und Kontrollgruppe	40
3.2.6. Histologische Befunde	41
3.2.7. Zusammenfassende Übersicht über die wichtigsten Ergebnisse zum Einfluß von Cyclophosphamid auf die chronische Entzündung	41

	Seite
4. DISKUSSION	43
4.1. Diskussion der Methodik	43
4.1.1. Entzündungsmodell	43
4.1.1.1. Akute Entzündung	43
4.1.1.2. Chronische Entzündung	51
4.1.2. Quantitative Erfassung der entzündlichen Reaktion	54
4.1.2.1. Allgemeines	54
4.1.2.2. Quantitative Erfassung der akut-entzündlichen Reaktion	57
4.1.2.3. Quantitative Erfassung der chronisch-entzündlichen Reaktion	62
4.1.3. Durchführung der cytostatischen Behandlung	64
4.1.3.1. Literatur	64
4.1.3.2. Cytostatische Behandlung bei den eigenen Versuchen	68
4.2. Diskussion der eigenen Ergebnisse	70
4.2.1. Akute Entzündung	70
4.2.2. Chronische Entzündung	72
4.3. Gegenüberstellung eigener und fremder Ergebnisse	76
4.3.1. Allgemeines	76
4.3.2. Akute Entzündung	77
4.3.3. Chronische Entzündung	78
4.4. Zur Frage des antiphlogistischen Wirkungsmechanismus von Pharmaka	80
4.4.1. Allgemeines	80
4.4.2. Verschiedene Pharmaka	81
4.4.3. Cytostatica	82
5. AUSBLICK	87
6. ZUSAMMENFASSUNG	88
7. TABELLEN- und KURVENANHANG	98
8. LITERATURSTELLEN	129

1. EINLEITUNG

Die feinmaschige Komplexität biologischer Vorgänge bringt es mit sich, daß diese uns umso komplizierter erscheinen, je tiefer wir in ihre Problematik eindringen; dies trifft auch für die Entzündung zu. Unter diesem Aspekt ist es schwierig, in einer kurzen Definition das Wesen entzündlicher Vorgänge zu umreißen.

1.1. Entzündung

Die Entzündung ist die vitale lokale Reaktion eines Mikrokreislaufer und der dazu gehörigen Gewebe, einschließlich Leukozyten und perivaskulärer Zellen wie Mastzellen und Histiozyten, auf einen Reiz, wobei MENKIN in seinem Werk "Newer Concepts of Inflammation" (1950) als Reiz jede Noxe definiert, die die normalen Stoffwechselvorgänge im Zellverband stört. Sie ist ein bei allen Tiergruppen gleichartig ablaufendes biologisches Phänomen, dessen Kardinalsymptome zu Beginn unserer Zeitrechnung zuerst von CELSUS beschrieben wurden: (83) Rötung, Schwellung, Hitze, Schmerz; diesem Symptomenquartett fügte hundert Jahre später GALEN das 5. Kardinalzeichen der "Funktionsminderung" hinzu.

Man muß der Dynamik des ständig im Fluß befindlichen Vorganges gerecht werden, indem man nicht von einer rein, sondern stets nur von einer überwiegend alternativen, exsudativen, proliferativen und reparativen Phase der Entzündung spricht (32/53/54). Einen wesentlichen Beitrag zu unserem

heutigen Erkenntnisgut über die Entzündung leistete COHNHEIM, der seine in der 2. Hälfte des 19. Jahrhunderts an der Keratitis des Frosch- und Kaninchenauges gemachten Beobachtungen in seiner epochemachenden Abhandlung "Über Entzündung und Eiterung" (32) darlegte, und der schon damals feststellte: "Ohne Gefäße keine Entzündung".

Das morphologisch am zugänglichsten, weil histologisch gut faßbare Phänomen, äußert sich nach Abklingen des akuten exsudativen Schubes in der Ausbildung eines polymorphzellig-Granulationsgewebes (53). Die Stärke der entzündlichen Reaktion ist bis zu einem Maximum proportional der Irritationsgröße sowie der Gewebsempfindlichkeit (112).

1.1.1. Akute Entzündung

Betrachten wir nun die Geschehnisse, wie sie als Manifestation einer zellulären Schädigung im Entzündungsgebiet zur Beobachtung kommen, ihrer Reihenfolge nach (83):

Im Vordergrund steht zunächst die Störung im Flüssigkeitsaustausch in Form einer initialen Zunahme der Kapillarpermeabilität, zu beziehen auf das Freiwerden von Leukotoxin, und in Form einer initialen Lymphstromzunahme. Daraufhin kommt es zu einer Fixation und damit Lokalisation des Irritans infolge Thrombenbildung und Einschluß in das entstehende fibrose Netzwerk. Weiterhin zu erwähnen ist die Diapedese polymorphkerniger Leukozyten, zu beziehen auf das Freiwerden von Leukotoxin bei gleichzeitig einsetzender, durch einen thermolabilen und einen thermostabilen Leuko-

zytosefaktor (ein Globulin) (54) hervorgerufener Leukozytose im zirkulierenden Blut und der Schädigung des Gewebes durch Freiwerden einer toxischen Substanz ("Necrosin"), bei der es sich ebenso wie beim Leukotoxin um ein Polypeptid handelt; eine oder mehrere im Entzündungsgebiet auftretende wachstumsfördernde Substanzen führen abschließend zur Wiederherstellung des Gewebes.

Lenken wir zunächst unsere Aufmerksamkeit der akuten exsudativen Entzündung zu und stellen die Frage nach den auslösenden Faktoren, so finden wir auch hier keine eindeutige oder einheitliche Antwort: Sicherlich spielen physikalische Faktoren bei der Einleitung des entzündlichen Prozesses eine Rolle, doch wird der weitere Verlauf im wesentlichen durch chemische Zwischensubstanzen (= Mediatoren) wie Histamin, 5-Hydroxytryptamin (5-HT), Kinine und andere gesteuert (32); für die Existenz derartiger Mediatoren spricht die Entdeckung, daß verschiedene endogene Substanzen an den Gefäßen die gleichen Veränderungen hervorrufen, wie sie nach einer Verletzung zu beobachten sind. ASCHHEIM (8) und JANESCO (65) sehen am Modell der Xylen-induzierten Entzündung im Vorhandensein einer intakten sensiblen Innervation eine der Voraussetzungen für die akute entzündliche Reaktion des Gewebes. ASCHHEIM vertritt die Ansicht (27), daß die Phase der linearen Aktivierung der von ihm postulierten "permeability-units" im Beginn der Entzündung in hohem Maße durch Axon-Reflexe bestimmt wird.

Zentrales Geschehen des akuten Prozesses ist der Einstrom von Flüssigkeit in das Entzündungsgebiet, wobei sich auf

Grund mehrerer Kriterien eine Frühphase von einer Spätphase trennen läßt (32).

Das Auftreten von Flüssigkeit mit Bluteiweißkörpern in einem entzündeten Hautareal ist nicht allein Ausdruck einer Kapillarpermeabilitätssteigerung (7/85/8). Vielmehr ist es so, daß die charakteristischen Komponenten des entzündlichen Ödems nicht von vornherein in der Blutflüssigkeit enthalten sind, sondern erst als Leistungen des ortsständigen Gewebes entstehen (85); Ursache und Ausmaß der Exsudation werden bestimmt von einer Vielzahl von Faktoren (7), wobei der Permeabilitätsfaktor jedoch fraglos eine wichtige Rolle spielt.

Über den Durchtrittsmechanismus exsudativer oder zellulärer Blutanteile durch die Gefäßwände herrscht in demselben Maße Verwirrung, in dem sich die Hypothesen zur Erklärung dieses Phänomens häufen. Das Ausmaß der Permeabilität könnte gesteuert werden: 1) durch die Endothelien selbst (man denkt an Poren und Kanäle), 2) durch die interzelluläre Kittsubstanz, 3) durch die Basalmembran und schließlich durch alle 3 Faktoren. Auch das Problem des chemischen Mediators ist noch nicht völlig geklärt. Der Histamintheorie, die heute die meisten Verfechter hat, steht die Peptid- oder Leukotoxintheorie von MEMKIN und als 3. Hypothese die Serum-Globulin-Theorie (permeabilitätssteigernder Faktor der α_2 -Fraktion) gegenüber (131).

Doch bedeutet die Bestätigung der einen Hypothese nicht notwendigerweise die Widerlegung der übrigen. Da sich die

akute Entzündung in eine Frühphase (erster Gipfel der Proteindurchlässigkeit der Gefäße nach 15 Minuten) und eine Spätphase (zweiter Gipfel nach Stunden) gliedern läßt (32), sind es wahrscheinlich mehrere Substanzen, die als chemische Mediatoren die Unterschiede im geweblichen Verhalten bedingen.

BURKE und MILES waren die Ersten, die eine Doppelgipflichkeit der Proteinextravasationskurve fanden (32) und ausgehend von ihrer Beobachtung von einer Frühphase mit einem Permeabilitätsgipfel der Gefäße schon nach 15 Minuten und einer Spätphase mit einem erst nach mehreren Stunden auftretenden Gipfel sprachen. ASCHHEIM (8/98/44), der einen steilen linearen Anstieg innerhalb der ersten 5 Minuten nach Gewebsirritation mit nachfolgendem 2minütigem logarithmischem Abfall der Gefäßpermeabilität (bei plateauartigem Andauern der ödematösen Schwellung) beschreibt, scheint nur die Frühphase beobachtet zu haben.

Im einzelnen ist der Ablauf der Frühphase folgender (39): Jede akut-entzündliche Reaktion beginnt auf dem Umweg der Freisetzung einer Mastzellaktiven Substanz (15) mit einer mehr oder weniger lokalisierten Destruktion von Mastzellen, die die für den Wasser- und Mineralhaushalt verantwortlichen Pumpsubstanzen, Histamin und 5 Hydroxytryptamin (5-HT), freisetzen. Diese Veränderungen in der Zellumgebung führen zu einem Anstieg des intrazellulären osmotischen Druckes, zum Platzen der Zellen und damit zum Freiwerden neuer Pumpsubstanzen von der Art des Histamins und 5-HT, wobei manche Autoren (15) dem 5-HT eine größere phlogogene Bedeutung beimessen als dem Histamin: die Kettenreaktion der akut-entzünd-

lichen Vorgänge ist eingeleitet. Zunächst spielt sich dieser Prozess an den Kapillarendothelien ab und es kommt zum Anstieg der Kapillarpermeabilität mit Austritt des Exsudates aus den Gefäßen in das Gewebe. Die Beschaffenheit des Exsudates ist in den ersten 3 Minuten wässrig, in den folgenden 10 Minuten gleicht sich sein Proteingehalt jedoch weitgehend dem des Blutplasmas an (9).

Die Freisetzung von Histamin und 5-HT zeigt sich morphologisch in einer histologisch faßbaren Degranulierung (116) sowie einem Schwund oder Zerfall der Mastzellen (131/90) im Ödemgebiet. Die Stärke der entzündlichen Reaktion in diesem frühen Stadium ist abhängig vom Histamingehalt des Gewebes. Sie ist vermindert nach Vorbehandlung mit dem Histamin-Liberator 48/80 (116/83/123) und vergrößert nach Vorbehandlung mit As_2O_3 (90). Wird bei einem Entzündungsprozeß weniger Histamin freigesetzt, so treten Ödem und Nekrose zugunsten der Granulation in den Hintergrund (122).

Die bisher beschriebenen Vorgänge spielen sich innerhalb der ersten 15 - 20 Minuten nach Setzen des phlogistischen Reizes ab.

Diese Frühphase der Exsudation wird abgelöst von einer mehrere Stunden anhaltenden Spätphase mit einem zweiten Kapillarpermeabilitätsgipfel für Protein, die biochemisch gekennzeichnet ist durch das Auftreten einer Vielzahl von Mediatoren. Diese mögen zunächst unter dem Begriff "Kinine" zusammengefaßt sein (32). In diesem Zusammenhang spielt neben dem Kallikrein (32/48), dem Hagemann Faktor (48/87), verschiedenen Proteasen und Polypeptiden (32) - zu denen als ungereinigtes Polypeptid auch MENKINS Leukotoxin gehört - das Bradykinin eine zentrale

Rolle. Es wird bei jeder Gewebsschädigung gleichzeitig mit Histamin freigesetzt (100/123). Mehrere Autoren (99/37/47) isolierten Kinine oder kininähnliche Substanzen aus Entzündungsherden.

MILES und MAJNO (32) vertreten die Ansicht, daß in dieser späten, über mehrere Stunden anhaltenden exsudativen Phase die Durchlässigkeit der Kapillaren für die Extravasation verantwortlich zu machen ist, während in der vorangegangenen minutenlangen Frühphase die Venolenpermeabilität das Ausmaß der Extravasation bestimmte (32). WILHELM und Mitarb. (138) beschreiben einen im Serum gefundenen PF (permeability factor), dessen Aktivierung aus einer Vorstufe durch einen Inhibitor unterbunden werden kann, und der im Gegensatz zum kurzfristig wirkenden Histamin die Kapillarpermeabilität für die Dauer von Stunden steigert. Histamin ist jedoch auch noch insofern für die späte Exsudationsphase der akuten Entzündung bedeutsam, als Bradykinin seine volle Wirksamkeit nur auf dem Boden einer gewissen Mittlerfunktion des Histamin entfaltet (123).

Ein weiteres neben der Exsudation für die akute Entzündung kennzeichnendes Phänomen ist die Zellemigration aus den Gefäßen in das Entzündungsfeld. Die Vorstellung, die man von diesen Vorgängen hat, sind noch weitgehend spekulativer Natur; trotzdem scheint festzustehen, daß der erste Schritt der Zellemigration in einem Haften der Granulozyten an der Gefäßwand im Entzündungsgebiet besteht (32) - möglicherweise infolge Aktivierung eines proteolytischen, die Oberflächenbeschaffenheit der Leukozyten verändernden Systems (3) -; daran schließt sich eine etwa 5 Minuten dauernde aktive elek-

tronenmikroskopisch nachgewiesene (80) Leukodiapedese durch die Interzellularbrücken der Gefäßendothelien an. Die Existenz eines chemotaktischen Stoffes ist sehr ungewiß (32). Während die Leukozyten sehr bald nach Einsetzen der Entzündung die Gefäßwand durchwandern, treten die Lymphozyten erst sehr spät im Entzündungsgebiet auf (54) und zwar nur unter der Voraussetzung, daß im geschädigten Gewebe bereits neutrophile Leukozyten vorhanden sind (93/94). Die Herkunft der mononukleären Zellen ist umstritten. Die Mehrzahl der Autoren (70/32/105) vertritt die Ansicht, daß die im akut-entzündlichen Gewebe auftretenden Makrophagen aus emigrierten Monozyten und nicht - wie BECKER (14) behauptet - aus Bindegewebszellen stammen.

Diese beiden Grundphänomene der Exsudation und der Zellemigration bestimmen das morphologische Bild der akuten Entzündung.

1. 1. 2. Chronische Entzündung

Gelingt es dem Organismus nicht, durch akut-entzündliche Vorgänge die phlogistische Noxe zu eliminieren oder zu entschärfen, so tritt allmählich die Exsudation zugunsten proliferativer oder produktiver Gewebsneubildung in den Hintergrund, ohne jedoch völlig zu verschwinden. Es kommt zu einer Aussprossung der Kapillaren in das Entzündungsgebiet, zu einer Wucherung der histiozytären Elemente und zur Ausbildung eines typischen, die entzündliche Noxe (z.B. eingebrachter Fremdkörper) abkapselnden und - sofern die Struktur

des Fremdkörpers es erlaubt - durchwachsenden Granulationsgewebes, dessen teilweise zu Riesenzellen umgewandelte Zellen zum größten Teil histiozytären Ursprungs sind und sich wohl nur zum kleineren Teil von Monozyten und größeren Lymphozyten (2) herleiten.

Das morphologische Endprodukt einer solchen durch einen nicht resorbierbaren Fremdkörper induzierten chronisch-proliferativen Entzündung ist ein aus neugebildeten Gefäßsprossen und Bindegewebelementen bestehendes Granulom.

1. 2. Bedeutung der Entzündung für den Organismus

Eine Abwehrreaktion des Organismus auf chemische, thermische, mechanische und bakterielle Reize - wie sie die Entzündung darstellt - muß jedoch nicht immer ein teleologisch sinnvoller und daher begrüßenswerter Vorgang sein. Oft genug ist die Entzündungsreaktion als solche bereits unerwünscht (z.B. Fremdkörpergranulation bei alloplastischen (Gefäß-) Transplantationen, aseptische Eiterungen, posttraumatische beziehungsweise postoperative Entzündungs- und Schwellungszustände, Entzündungen der Adnexe und des Beckenbindegewebes, Entzündungen des Auges und im Hals-Nasen-Ohrenbereich) oder aber kann in ihrer allergisch-hyperergischen Form zu Krankheitsbildern führen (Arthritiden, Asthma bronchiale, Nephritiden), die die Notwendigkeit einer antiphlogistischen Therapie erkennen lassen.

1. 3. Antientzündliche Therapie

Es sind daher immer wieder Methoden und Pharmaca auf ihre antiphlogistische Wirkung geprüft worden. FABRICIUS HILDANUS (1560 - 1634) beschreibt bereits in seinen "Opera quae extant omnia" (Frankfurt/Main 1646) die Haarseilmethode als bis ins 19. Jahrhundert hinein beliebte Maßnahme zur Entzündungsbekämpfung, die auf der Vorstellung der Ableitung verdorbener Säfte durch Eiterung basiert.

Die erste Arbeit über Entzündungshemmung mit neuzeitlicheren Methoden erschien 1940 von MENKIN (84), einem amerikanischen Forscher, dessen vielfältige Theorien zwar teilweise eher einem gewissen Ideenreichtum als einer wissenschaftlich exakten Versuchsanordnung zu entspringen schienen, dem aber trotzdem die moderne Entzündungslehre einen großen Teil ihrer Grundlagen verdankt. MENKIN beobachtete damals, daß die Farbstoffabwanderung von intravenös appliziertem Trypanblau in ein durch lokale Leukotoxin-Injektion entzündlich verändertes Bauchhautareal des Kaninchens bei gleichzeitiger Verabfolgung eines Nebennierenrinden-Extraktes geringer war, als bei den nicht mit NNR-Extrakt behandelten Kontrolltieren.

Seit MENKINS Entdeckung wurden in rascher Folge die antiphlogistischen Wirkungen von Pharmaca aus den verschiedensten Stoffklassen beschrieben, wobei ein derart komplexer Prozeß, wie ihn das Entzündungsgeschehen darstellt, eine Vielzahl von Angriffspunkten bietet.

Es lassen sich 2 große Gruppen von antiphlogistischen Pharmaca unterscheiden:

a) die steroidalen und b) die nicht steroidalen; mit Rücksicht auf die spezielle Fragestellung der Arbeit wurde eine Gruppe c) der nicht steroidalen aber carcinolytischen Substanzen aufgestellt. Als erster untersuchte MENKIN 1940 (84) die antiphlogistische Wirkung einer Substanz, deren steroidaler Charakter sich erst später herausstellte (z.n. 83). Es erschienen danach eine Fülle von Arbeiten, die über die entzündungshemmende Wirkung der Glucocorticoide berichteten (82/141/52).

Bei den nicht steroidalen Antiphlogistica hat sich bis jetzt kein sicherer Zusammenhang zwischen chemischer Struktur und pharmakologischer Wirkung nachweisen lassen (32). Es handelt sich dabei vor allem um verschiedene Analgetica und Antipyretica, wie Acetylsalicylsäure (129), Na-Salicylat (135/132/129); Aminopyrin (135/129), Phenylbutazon (134/49/129) und Oxyphenylbutazon (135/22/134). Aber auch bei anderen Pharmaca ist eine mehr oder weniger antiphlogistische Wirkung beschrieben worden, so zum Beispiel von Indomethacin (140), 5-Hydroxytryptamin-Abbau hemmenden Monoaminoxidasehemmern (119), dem Antigichtmittel Cinchophen (129), Derivaten des Antimalaria-Mittels Chloroquin (55), von verschiedenen Antikoagulantien (64), starken Analgetika, wie zum Beispiel Morphin (82), Antihistaminica (82), vom Oxolamin (117), den Substanzen Cl-445¹ (139) und W 1917 (11) und vielen anderen.

Die meisten Arbeiten über die antiphlogistische Wirkung von Zytostatica betreffen Stickstofflost-Derivate (25). Neben vielen anderen haben die Arbeiten von SALYAMON (102), MEIER (82), CALNAN (25), FARHAT (40), SCALDRINI (63) diesen antiphlogistischen Effekt von Stickstofflost zum Thema.

Die ersten Mitteilungen über die Anwendung von Stickstofflost

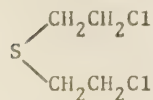
als Antiphlogisticum in der Klinik stammen von JIMENEZ-DIAZ und Mitarb., welche die günstige Wirkung dieser Substanz bei Polyarthritits und Asthma bronchiale beschrieben. Auch bei anderen carcinolytischen Pharmaca sind antientzündliche Wirkungen im Tierversuch beobachtet worden; so beim Methotrexat (25), dem 5-Fluoruracil (25), Aminopterin (52/82), Colchicin (135/82/42), 6-Mercaptopurin (93/109), Urethan (81), Triäthylmelamin (103); im weiteren Sinne kann man auch die Röntgen- (130) und die Korpuskularstrahlung (58) zu dieser Gruppe zählen.

1. 4. Näheres über Stickstofflost und Cyclophosphamid (Endoxan)

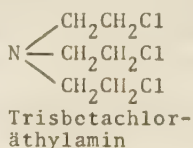
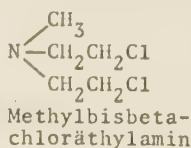
Bekannt wurde Stickstofflost als Kampfmittel im Krieg 1914 - 1918 (45).

1941 wies RICHTER in seinem in Leipzig unter dem Titel "Kriegsgase und Heilung" erschienenen Buch auf die therapeutischen Möglichkeiten dieser mörderischen Substanz hin. Die ersten Mitteilungen hatten die teilweise enttäuschende Wirkung von Stickstofflost auf Tumoren, bei Leukämie und Lymphogranulomatose zum Thema (38).

Chemisch ist Stickstofflost ein Derivat des Mustagen, in dem der Schwefel durch Stickstoff substituiert ist (45).

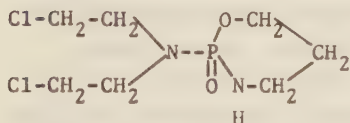


Mustardgas



Stickstofflost

Da sich diese Substanz in der Chemotherapie des Krebses als sehr wirksam erwiesen hat, sie für eine klinische Anwendung jedoch zu toxisch ist, (36) wurden durch Kopplung der Lostgruppe an verschiedene Trägermoleküle die therapeutischen Eigenschaften erheblich verbessert. Nach diesem Transportform-Wirkform-Prinzip, wie es von DRUCKREY und RAABE erstmals beschrieben ist (20), wurde das Cyclophosphamid (Endoxan), das N, N Bis-(2-chloräthyl-) N,'O-propylenphosphorsäurediamid, entwickelt (36).



Transportform / Wirkform-Prinzip beim Cyclophosphamid (36)

Cyclophosphamid ist in vitro inaktiv, in vivo hingegen schon kurze Zeit nach seiner Applikation, und zwar maximal im Blutserum (21), hochwirksam. Perfusionsversuche an der isolierten Rattenleber (21) und an Gewebeschnitten in der Warburg-Apparatur (21) ergaben, daß die Transportform Cyclophosphamid vor allem in den Lebermikrosomen unter Anwesenheit von NADSH und O₂ in ein Aktivierungsprodukt übergeführt wird, das jedoch noch nicht mit Stickstofflost identisch ist (21). Vermutlich handelt es sich bei diesem Aktivierungsprodukt um ein hydrolytisches Ringöffnungsprodukt des Cyclophosphamids, das spontan in die Wirkform, vermutlich NH-Lost (5) übergehen kann (21). Diese Vorgänge lassen erkennen, daß die Umwandlung der inaktiven Transportform in die cytostatisch hoch aktive

Wirkform über eine Reihe von ebenfalls sehr wirksamen Umwandlungsprodukten verläuft, die möglicherweise für die Verschiedenartigkeit der pharmakologischen Wirkungen des Cyclophosphamids verantwortlich zu machen sind. Hier sind neben der cytostatischen Wirkung noch ein antiallergischer und ein entzündungshemmender Effekt zu nennen.

1.5. Klinische Erfahrungen zur antiphlogistischen Wirksamkeit der Cytostatica

Eine im Tierexperiment antiphlogistisch wirkende Substanz muß beim Menschen nicht zwangsläufig eine entsprechende Rolle spielen; Parallelen zwischen tierexperimentellen Befunden und möglichen therapeutischen Wirkungen beim Menschen dürfen also nur mit strengster Zurückhaltung gesehen werden (82).

1950 berichteten JIMENEZ-DIAZ und Mitarb. (67) zum ersten Mal über die klinischen Erfolge bei der Behandlung der rheumatischen Arthritis und des Asthma bronchiale - also allergisch-entzündlicher Erkrankungen - mit Stickstofflost. Zu ganz ähnlichen Ergebnissen kamen ERLSBACHER (38), JIMENEZ-DIAZ (66), BALLESTERO (12), CRUZ-AUNON (30), WALDBOTT (133), TELLEZ (126), GARCIA-CONDE-GOMEZ (45).

Das Cyclophosphamid Endoxan wurde von PARSONS und Mitarb. (95) zur Unterdrückung immunologischer und entzündlicher Reaktionen bei der Transplantation von Leichennieren eingesetzt, während BIANCHI und GALLO (17) den guten therapeutischen Effekt des gleichen Präparates bei chronischem Gelenkrheumatismus beschrieben.

MUGLER und GRAPPE (89) sowie FORMAN und Mitarb. (42) beschrieben die gute Wirksamkeit des Colchicins bei entzündlich-allergischen Erkrankungen. Weiterhin wurden von SCHWARTZ (109) und PAGE (93) das 6-Mercaptopurin zur Behandlung entzündlicher und allergisch-entzündlicher Erkrankungen empfohlen. Allerdings stellt sich jedoch gerade bei allergischen Erkrankungen die Frage, inwieweit die beobachtete günstige Wirkung auf eine direkte Beeinflussung von Entzündungsvorgängen zurückzuführen ist. Es liegt vielmehr nahe, eine Hemmung der Antikörper-Produktion durch cytostatische Beeinflussung des kompetenten Gewebes anzunehmen.

Über die klinische Verwendbarkeit des Aminopterins zur Behandlung der Psoriasis berichtete GUBNER (12). Weiterhin liegen eine Reihe von Publikationen über die günstige Wirkung von Methotrexat bei der gleichen Erkrankung vor (unter anderen 110/68/76). Angesichts dieser Vielzahl von Arbeiten, die die gute antiphlogistische Wirkung von Stickstofflost-Derivaten und anderen Cytostatica besonders bei chronisch-entzündlichen Erkrankungen zum Thema haben, erkennt man die bedeutsame Ausdehnung der Indikationsbreite solcher Pharmaca auf einem Gebiet, welches bislang die Domäne der oft mit unangenehmen Nebenwirkungen behafteten Corticosteroide war.

In der Dermatologie haben sich die bereits oben erwähnten Antimetaboliten 6-Mercaptopurin und Methotrexat einen festen Platz in der Therapie der Psoriasis erobert. Wegen der unerwünschten Nebenwirkung auch dieser Präparate (Beeinflussung anderer Mäusergewebe) wird die Behandlung in der Regel auf die Therapieresistenten psoriatischen Erythroder-

mien und hartnäckige Verlaufsformen von ausgedehnter Psoriasis vulgaris bei älteren Patienten beschränkt. Bezüglich des Wirkungsmechanismus stellt sich die Frage, ob die beobachtete günstige therapeutische Wirkung mehr auf eine Hemmung der bei dieser Erkrankung vorliegenden gesteigerten Epidermopoese oder der im Hautbindegewebe ablaufenden entzündlichen Reaktion zurückzuführen ist. Es sei in diesem Zusammenhang erwähnt, daß auch heute noch nicht mit letzter Sicherheit entschieden werden kann, ob der Psoriasis vulgaris eine primär gesteigerte Epidermopoese mit sekundär-entzündlichen Veränderungen im Gefäßbindegewebe oder umgekehrt primär eine entzündliche Reaktion mit nachfolgender Beeinflussung der Epidermis zugrunde liegt. Die entzündlichen Veränderungen bei Psoriasis vulgaris werden als lymphocytär-histiocytäres Infiltrat im Corium deutlich, denen im Frühstadium auch noch polymorphkernige Leukozyten beigemischt sind (77). Die Gefäße der Coriumpapillen sind stark dilatiert, häufig findet sich eine Neubildung von Capillaren durch Sprossungsvorgänge (111). Eine proliferative oder produktive Komponente der Entzündung mit Neubildung von Bindegewebszellen liegt jedoch in keinem Falle vor. Nimmt man an, daß der günstigen Wirkung von Cytostatica bei Psoriasis vulgaris ein antiphlogistischer Effekt zugrunde liegt, so wäre zu folgern, daß durch diese Medikamente auch Entzündungsreaktionen beeinflusst werden, die keine proliferative Komponente aufweisen. Aufgrund der vorliegenden Literatur kann nicht mit Sicherheit entschieden werden, ob dies der Fall ist oder nicht. Um diese wichtige Frage zu klären, wurde in der vorliegenden Arbeit die Wirkung eines Cytostaticums (Endoxan) auf die akute exsudative Entzündung einerseits und die chronisch-proliferative Entzündung andererseits tierexperimentell geprüft.

2. METHODIK

2.1. Tiermaterial

Sowohl bei den Versuchen über die akute Entzündung als auch bei denen über die chronische Entzündung wurden reinrassige, männliche, 150 bis 200 g schwere Albino-Meerschweinchen vom Stamm Pirbright white (Tierzuchterei Brünger, Bokel) bezogen. Während einer Adaptationszeit von 3 bis 4 Tagen nahmen die Tiere bis zu einem Durchschnittsgewicht von 230 g bei Versuchsbeginn zu. Futter (Altronin M Pellets) und Wasser erhielten die Tiere ad libitum. Die Haltung erfolgte in Zweiergruppen bei einer Raumtemperatur von 18° C.

Im Rahmen der Untersuchungen über die akute Entzündung und ihre Beeinflußbarkeit durch Cyclophosphamid (Endoxan) wurden 18 Tiere mit Endoxan behandelt, während die aus 19 Tieren bestehende Kontrollgruppe Kochsalz erhielt.

Bei der chronischen Entzündung wurden insgesamt 21 Tiere untersucht; 6 Tiere der Kontrollgruppe erhielten Kochsalz; bei 9 Tieren wurde eine fraktionierte und bei 8 Tieren eine Stoßbehandlung mit Cyclophosphamid durchgeführt.

2.2. Akute Entzündung

2.2.1. Entzündungsmodell

In Analogie zu den mannigfach in der Literatur beschriebenen, durch die verschiedensten Substanzen induzierten Pfotenödemen

(besonders bei Ratten) wurde als Entzündungsmodell das Formalinödem der Meerschweinchen-Hinterpfote gewählt. In einem Plastikeimer, dessen schaumgummibeleger Boden und Deckel mit Aether pro narcosi getränkt wurden, erfolgte die Narkose der Tiere bis zu einer Einschlaf tiefe, bei der die Atemfrequenz merklich abgenommen hatte. In diesem Stadium der Analgesie konnte nun bei 37 Tieren die subplantare Injektion von 0,05 ml einer 3 %igen Formalinlösung in die linke Hinterpfote vorgenommen werden. Kam es dabei zur Ausbildung eines Hämatoms, so war das Tier für eine weitere Untersuchung untauglich geworden.

2.2.2. Messung der akut-entzündlichen Reaktion

Als Parameter für die Stärke der akut-entzündlichen Reaktion diente die plethysmographisch gemessene Pfotenschwellung, die sich als Differenz der Volumina von entzündlich geschwollener linker Hinterpfote und unbehandelter rechter Hinterpfote zum jeweiligen Zeitpunkt unter Berücksichtigung eines bereits vor Versuchsbeginn möglicherweise bestandenen Volumenunterschiedes der beiden Pfoten ergab. Jeder Volumenwert wurde als Mittel aus drei Messungen errechnet. Die Messungen erfolgten vor Formalininjektion zur Ermittlung des Ausgangsvolumens und unmittelbar, 30 Minuten, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18, 24, 36, 48, 60 Stunden nach Formalininjektion, wobei zu jedem dieser Zeitpunkte für beide Hinterpfoten je drei Meßwerte notiert wurden. Die plethysmographischen Messungen wurden mit einem speziell für diesen Zweck selbst entworfenen und zusammengestellten Gerät (s.u.) durchgeführt. Dabei wurde das

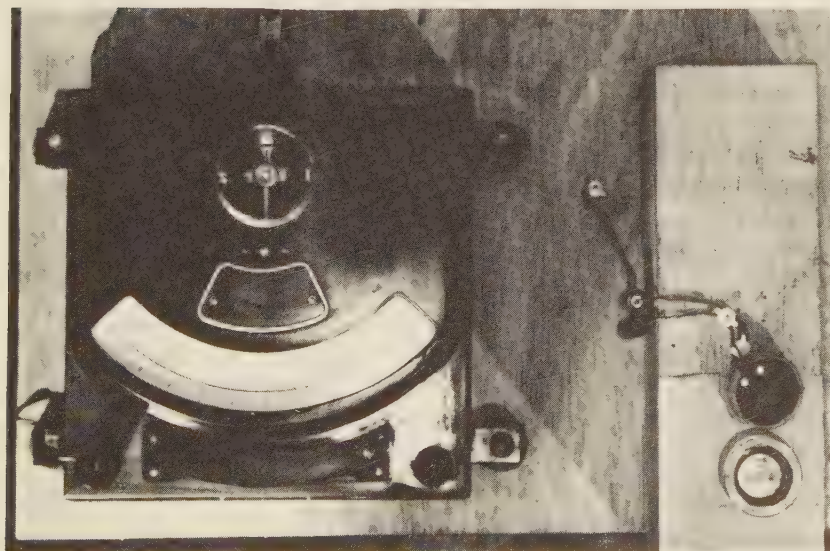
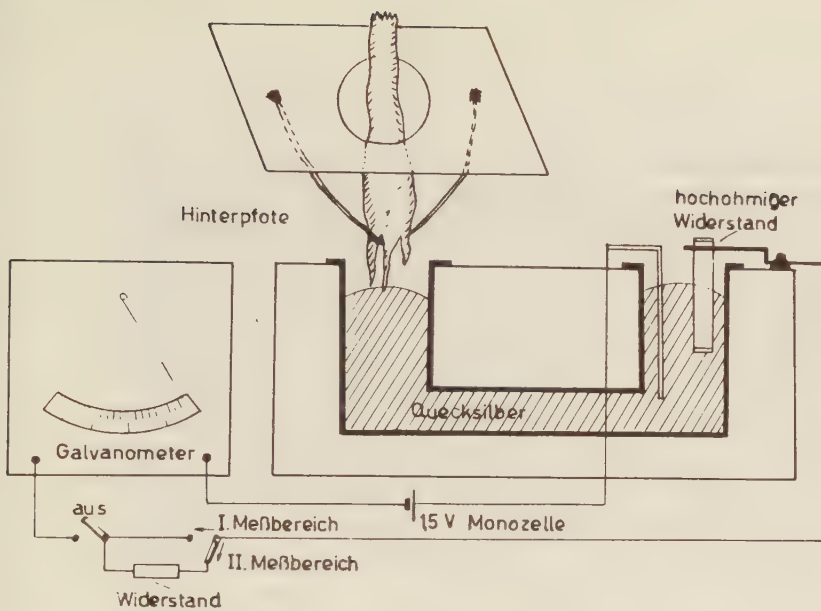


Abb. 1 u. 2:

Schematische und fotografische Darstellung der elektrisch-plethysmographischen Meßvorrichtung

nicht narkotisierte Tier mit einer Hand am Brustkorb umfaßt und in eine aufrechte Körperhaltung gebracht, so daß nun der Hinterfuß soweit durch die Öffnung eines dünnen Holzplättchens geschoben werden konnte, bis der schlaufenförmig an der Unterseite dieses Plättchens befestigte Drahtbügel (siehe Abbildung) fest in den ersten Zwischenzehenraum zu liegen kam. Wurde nun die Pfote mit dem Drahtbügel so weit in den einen Schenkel eines U-Röhrchens eingetaucht, bis das Plättchen dem Rand des Gefäßes aufsaß, so war bei jedem Tier und bei jeder Messung die gleiche Eintauchtiefe gewährleistet. Als Eintauchflüssigkeit wurde Quecksilber verwandt. Der Anstieg des Quecksilberspiegels wurde galvanometrisch über die Verkürzung eines senkrecht in das Quecksilber eintauchenden elektrischen Stabwiderstandes gemessen: Am freien Rand des Schenkels, der nicht als Eintauchgefäß diente, war ein mit dem positiven Pol einer 1,5 V Monozelle verbundener hochohmiger Stabwiderstand so befestigt, daß sein unteres Ende eben senkrecht in die Flüssigkeitsoberfläche eintauchte. Über diesen Widerstand floß der Strom durch das gut leitende Quecksilber zu einem Draht, der die Verbindung mit einem hochempfindlichen, geringste Stromschwankungen mit einem großen Ausschlag beantwortenden Galvanometer herstellte, das seinerseits durch Anschluß an den negativen Pol der Monozelle den Stromkreis schloß. Durch den Einbau eines zweiten Widerstandes, der nach Belieben in den Stromkreis eingeschaltet werden konnte, war eine Verbreiterung des Meßbereiches - natürlich auf Kosten der Ablesegenauigkeit - möglich, da der Ausschlag des Gerätes nicht linear, sondern logarithmisch mit sinkender Stromstärke abfiel. Da die Skaleneinteilung des Gerätes einer elektrischen Dimension entsprach, mußten die Zeigerausschläge in einer Eichkurve (mit zugehöriger Eich-

tabelle) übertragen werden, aus der dann die absoluten Werte der Pfortenvolumina in mm^3 entnommen werden konnten. Die Skala des Gerätes war so eingeteilt, daß ein Unterschied im Zeigerausschlag von 0,5 gut abzulesen war; dieser Abstand zwischen zwei Teilstrichen entsprach im unteren weniger empfindlichen Meßbereich (750 mm^3) einer Volumdifferenz von 10 mm^3 und im oberen Meßbereich (1500 mm^3) von nur 5 mm^3 . Daraus resultierte ein möglicher Ablesefehler von rund $\pm 0,7 \%$ beziehungsweise rund $\pm 0,2 \%$. Spritzten während der Messung Quecksilbertropfen neben den Rand des Gefäßes, so konnte gravimetrisch durch Austarierung des Holzblockes, in dem das Quecksilbergefüllte U-Gefäß eingelassen war, das alte Flüssigkeitsvolumen relativ einfach und mit ausreichender Genauigkeit wieder eingestellt werden. Diese Einstellung erfolgte vor Beginn jeder Meßreihe mit einer Pipette.

2.2.3. Durchführung der cytostatischen Behandlung

Die Verabfolgung des Cyclophosphamids (Endoxan) erfolgte als intrakardiale Injektion von 100 mg/kg Körpergewicht in einer frisch zubereiteten Lösung bei 18 Tieren vor der subplantaren Injektion des Formalin. Dazu wurden die Tiere in Rückenlage auf einem Operationstischchen gelagert, ein markstückgroßer Bezirk über der Injektionsstelle mit einem elektrischen Rasiermesser von Haaren befreit, mit Jod desinfiziert und der Herzspitzenstoß palpiert, der bei den meisten Tieren sehr gut im 3. bis 4. ICR hart am linken Sternalrand zu fühlen war. Der Einstich erfolgte mit einer Zweier-Kanüle, der eine Tuberculinspritze aufgesetzt war, in leichtem Winkel nach caudal und medial mit einem kurzen kräftigen Ruck, wobei ge-

wöhnlich bereits eine Einstichtiefe von 5 - 10 mm genügte, um die Kanüle in den linken Ventrikel vorzuschieben. Die richtige Lage der Kanüle zeigte sich an ihren wippenden Bewegungen im Rhythmus des Herzschlages und am pulsierenden Aufsteigen des Blutes.

Eine Kontrollgruppe von insgesamt 19 Tieren erhielt die entsprechende Menge physiologische Kochsalzlösung bei gleicher Applikationsweise.

Bei allen Tieren wurde das Körpergewicht bestimmt.

2.3. Chronische Entzündung

2.3.1. Entzündungsmodell

Als Entzündungsmodell wurde das Fremdkörpergranulom gewählt, das sich nach Implantation eines Polyäthylenschwämmchens unter die Rückenhaut entwickelte. Aus einer 2 mm dicken Polyäthylenschwammplatte wurden 10 mg wiegende Scheibchen von rund 7 mm Radius geschnitten. Unter Äthernarkose wurde bei 21 Tieren durch einen Längsschnitt (1 cm) an einer enthaarten und desinfizierten Stelle über dem unteren Anteil der Brustwirbelsäule am Rücken ein zusammengerolltes steriles Schaumplättchen mit einer Pinzette nach seitlich oben bis zum unteren Winkel des Schulterblattes vorgeschoben und dort nach vorsichtigem Spreizen der Pinzette zwischen Haut und oberflächlicher Rückenmuskulatur in der fettgewebsarmen subcutanen Schicht ausgebreitet. Die Wunde wurde geklammert und war nach wenigen Tagen bereits soweit verschlossen, daß die Klammern wieder entfernt werden konnten. Es war darauf zu ach-

ten, daß die Hautwunde soweit von der Implantationsstelle entfernt lag, daß Wundheilung und Fremdkörpergranulom nicht ineinander übergriffen. Nach 14 Tagen wurden die Tiere getötet, die Haut im Granulombereich von ihrer Unterlage abgehoben, so daß nun das makroskopisch gut abgrenzbare Granulom ohne Schwierigkeiten von der Unterseite des Hautlappens abpräpariert werden konnte.

2.3.2. Messung der chronisch-entzündlichen Reaktion

Unmittelbar im Anschluß an die Präparation wurde das Feuchtgewicht sowohl des rechts als auch des links gewachsenen Granuloms bestimmt. Während die Granulome der linken Seite zur späteren histologischen Untersuchung in Formalin fixiert und in Paraffinblöcke eingebettet wurden, wurden die der rechten Seite 24 Stunden im Lyophilisator gefriergetrocknet und dann ihr Trockengewicht bestimmt.

Zur histologischen Untersuchung der chronisch-entzündlichen Reaktion wurden die mikroskopischen Schnitte der Granulome mit Hämatoxilin-Eosin gefärbt. Besonders die Breite der Granulationswand, das Ausmaß der Fremdkörperriesenzellbildung und der Kapillarsprossung galten dabei als Parameter für die entzündliche Reaktion.

2.3.3. Durchführung der cytostatischen Behandlung

Die Applikation der frisch zubereiteten Cyclophosphamidlösung erfolgte intrakardial. 9 Tiere erhielten 100 mg/kg Körperge-

wicht als Stoß unmittelbar vor Implantation der Polyäthylenscheibchen, 8 Tiere je ein Drittel 100 mg/kg Körpergewicht unmittelbar vor Implantation, am 4. und 8. Tag nach Implantation. Die Kontrollgruppe (6 Tiere) erhielt die gleiche Menge physiologischer Kochsalzlösung.

In Abständen von 2 Tagen wurden die Tiere gewogen; ferner wurden bei allen Tieren vor Versuchsbeginn und nach Ablauf von 14 Tagen die Leukozyten gezählt; bei den fraktioniert behandelten Meerschweinchen zusätzlich am 4. und 8. Tag im Rahmen der Herzpunktion. Daneben galten Verhalten und Appetit der Tiere als grober Maßstab für das körperliche Gedeihen.

2.4. Statistik

2.4.1. Akute Entzündung

Statistische Analyse der Meßwerte

Die in einer Meßwerttabelle eingetragenen und graphisch in Abhängigkeit von der Zeit dargestellten Pfortenschwellungswerte (in mm³) wurden zunächst auf eine mögliche Abhängigkeit vom Körpergewicht der Tiere untersucht. Die Berechnung einer solchen Beziehung erfolgte einmal als Produkt-Moment-Korrelation (86), zum anderen anhand des Punkt-Vierfelder-Schemas (86). Weiterhin wurden die Mittelwerte der Tiergewichte und der maximalen Pfortenschwellungswerte (S_{max}) nach der Formel $\mu = \frac{\sum x}{N}$ bestimmt. Bevor der t-Test zur Signifikanzprüfung der Mittelwertsunterschiede (nach der Formel $t = \frac{\bar{x} - \bar{x}'}{S}$, wobei

$$S_D = \sqrt{\frac{S^2_{xx'}}{N} + \frac{S^2_{x'x'}}{N'}} \quad \text{und} \quad S^2_{xx'} = \frac{E(x^2) - \bar{x}E(x) + E(x'^2) - \bar{x}'E(x')}{N+N-2}$$

ist) durchgeführt wurde, mußte im F-Test die Populationshomogenität festgestellt werden. Weiterhin wurde die Dispersion der Schwellungsmaxima um den Mittelwert als Durchschnitt aller Abweichungsquadrate (σ) vom Mittelwert (μ) errechnet. Da häufig durchschnittlich größere Maße auch größere mittlere Abweichungen zeigen als kleinere Maße, wurde in der unbewiesenen Annahme, daß auch hier eine solche Proportionalität von Mittelwert und Streuung vorliegt, als Maßzahl für die Variabilität des Merkmals Pfortenschwellung der Variabilitätskoeffizient verwendet ($V = 100 \cdot \sigma/\mu$), der die Streuung in Prozenten des Mittelwertes angibt.

Zur Vereinheitlichung der zeitlichen Pfortenschwellungsverläufe wurde eine gemeinsame Pfortenschwellungsmaximumszeit $t_{S_{\max}}$ als gewogener Durchschnitt aller $t_{S_{\max}}$ errechnet

$$\left(\bar{t}_{S_{\max}} = \frac{(t'_{S_{\max}} \cdot N') + (t''_{S_{\max}} \cdot N'') + \dots + (t^n_{S_{\max}} \cdot N^n)}{N' + N'' + \dots + N^n} \right) ,$$

so daß nun nach entsprechender Umrechnung der übrigen Zeitwerte ($t_i = \frac{t}{t_{S_{\max}}} \cdot \bar{t}_{S_{\max}}$) eine für alle Tiere geltende mittlere

re Pfortenschwellungskurve mit zugehöriger Regressionskurve ($S_{f_i} = a \sqrt{t_i} + b \sqrt[3]{t_i}$) aufgestellt werden konnte. Nach Erhalt einer solchen Regressionskurve war es möglich, Meßfehlerstreuung und Streuung der Schwellungswerte, die durch einen schubartigen, rhythmischen Verlauf der akut entzündlichen Reaktion zustande kamen, voneinander abzugrenzen und den bestehen-

den Mittelwertsunterschied mit Hilfe des t-Testes auf seine Signifikanz zu prüfen.

2.4.2. Chronische Entzündung

2.4.2.1. Meßwerttabelle

In einer Maßzahltablelle wurden die Werte für die Granulomfrischgewichte (G_{fr}), die Granulomtrockengewichte (G_t), die Tiergewichte (TG) und weitere aus diesen drei Grundgrößen berechnete Werte zusammengestellt.

2.4.2.2. Tabellen und Diagramme

In einem ersten tabellarischen und graphischen Teil der Untersuchungsergebnisse kommen in mehreren Säulendiagrammen die Mittelwerte und die Mittelwertsunterschiede zur Darstellung. Unterschiede zwischen den Granulomgewichten der einzelnen Versuchsgruppen (Kontrollgruppe, Cyclophosphamidstoßbehandelte und Cyclophosphamid-fraktioniertbehandelte Tiergruppe) soll auch die Kurve der kumulativen Häufigkeitsverteilung veranschaulichen, wobei Klassen von je 20 Granulomgewichtsskores zusammengefaßt wurden. Um mögliche Unterschiede im Gedeihen der Cyclophosphamid-behandelten Tiere und der nicht Cyclophosphamid-behandelten Tiere erkennbar zu machen, sind in einigen weiteren Kurven die 2-tägigen und die 14-tägigen Körpergewichtszunahmen der Tiere graphisch dargestellt.

2.4.2.3. Statistische Analyse der Meßwerte

An diesen Kurventeil, der mehr der Veranschaulichung als der rechnerisch exakten Erfassung der Ergebnisse zgedacht ist, schließt sich die eigentliche statistische Analyse der Untersuchungsergebnisse an, indem neben der Streuung der Mittelwerte für G_{fr} , G_t , G_{fl} und TGZ die Signifikanz der Mittelwertsunterschiede im t-Test beziehungsweise im Duncan-t-Test (86) ermittelt wurde (auch hier wieder unter der Voraussetzung, daß der F-Test den Beweis für die Populationshomogenität erbracht hatte). Wegen der besseren Schätzung von σ beziehungsweise wegen der größeren Anzahl an Freiheitsgraden wurde in Ergänzung zum t-Test noch eine Varianzanalyse durchgeführt, wobei es um das Verhältnis Varianz zwischen den Gruppen zu Varianz innerhalb der Gruppen ging.

Um die Frage des Einflusses der Tiergewichtszunahme auf das Granulomgewicht zu klären, wurde die Produkt-Moment-Korrelation zwischen diesen Größen berechnet; im Anschluß daran findet sich eine varianzanalytische Untersuchung über die Wirkung der beiden unabhängigen Variablen: Behandlungsart und Tiergewichtszunahme auf das Granulomgewicht.

2.4.3. Abkürzungen

N	Kochsalz-behandelte Kontrollgruppe (19 Tiere bei der akuten Entzündung; 6 Tiere bei der chronischen Entzündung).
E bzw. ES/F	Cyclophosphamid (Endoxan)-behandelte Versuchsgruppe (18 bzw. 15 Tiere); bei der chronischen Entzündung: ES = 8 stoßbehandelte Tiere EF = 7 fraktioniertbehandelte Tiere

N/E Gesamtheit aller Tiere
 (akute Entzündung: 37 Tiere)
 (chron. Entzündung: 21 Tiere)

Zur akuten Entzündung:

S Schwellung in % der maximalen Schwellung
S_{max} Maximale Schwellung = 100 %
t Zeit in Stunden nach Versuchsbeginn
t_{S_{max}} Zeit, in der das Schwellungsmaximum erreicht wird
σ Gesamtstreuung der S um die ermittelte Regressions-
 kurve
σ' Durch Meßfehler bedingte S-Streuung

Zur chronischen Entzündung:

G_{fr} Granulomfrischgewicht (in mg)
G_t Granulomtrockengewicht (in mg)
G_{fl} Granulomflüssigkeitsgewicht (in mg) = G_{fr} - G_t
Q_{fl/t} Quotient G_{fl} : G_t
TAG Tieranfangsgewicht (in g)
TEG Tierendgewicht (in g)
TGZ Tiergewichtszunahme innerhalb von 14 Tagen (in g)

3. EIGENE ERGEBNISSE

3.1. Akute Entzündung

Am Pfotenödem des Meerschweinchens nach subcutaner Injektion von Formalin in die Hinterpfote als Modell für die akute Entzündung wurde bei 18 Tieren der Einfluß des gleichzeitig mit der phlogistischen Noxe intrakardial verabfolgten Cyclophosphamids (= Endoxan) (100 mg/kg Körpergewicht) auf den akut-entzündlichen Prozeß untersucht. Dazu wurden in regelmäßigen zeitlichen Abständen plethysmographisch mit einem eigens für diesen Zweck konstruierten Gerät bei jedem Tier die Volumina der Formalin-behandelten und der unbehandelten Hinterpfote in dreimaliger Messung bestimmt.

3.1.1. Beeinflussung der akuten Entzündung durch Cyclophosphamid (Endoxan)

Wie Abb. 3 zeigt, verliefen die Kurven der Versuchsgruppen (E) im selben Bereich wie die der Kontrollgruppen (N). Einem steilen rhythmischen Anstieg bis zum maximalen Schwellungswert ($S_{\max} = 100 \%$) innerhalb der ersten 6 - 12 Stunden (bei 2 Tieren wurde $S_{\max}$ erst in der 18. Stunde erreicht) (Tab. 2) schloß sich ein langsamer Rückgang des Pfotenödems an, wobei das Ausgangsvolumen nach 48 Stunden nahezu wieder erreicht wurde. Innerhalb von 6 - 12 Stunden nach Versuchsbeginn konnte bei den im Mittel 231 g (Tab. 3) wiegenden Tieren eine durchschnittliche Pfotenvolumenzunahme von $\mu_{N/E} = 252 \text{ mm}^3$ gemessen werden (Tab. 3), wobei der Unterschied der beiden Gruppenmittelwerte $\mu_N = 255 \text{ mm}^3$ minus

$\mu_E = 250 \text{ mm}^3$ 5 mm^3 betrug, also weniger als 2 % der mittleren Schwellung.

Nachdem das Ergebnis des bei kleinen Stichproben unumgänglichen F-Testes (Nachweis der Populationshomogenität der beiden Stichproben N-Tiere und E-Tiere, die sich in Bezug auf das gemessene Merkmal "Pfortenschwellung" nicht unterscheiden) die Voraussetzung zur Durchführung des t-Testes erbracht hatte, konnte gezeigt werden, daß für die Mittelwertsdifferenz der Pfortenschwellungen $\mu_N - \mu_E = 5 \text{ mm}^3$ keine ausreichende Wahrscheinlichkeitssignifikanz vorhanden war ($t_{Smax} = 0,201$).

	F	df ₁	df ₂	Signifikanz im F-Test	
				gerichtet	ungerichtet
F-Test	1,38	18	17	>5 %	>10 %
	df	t _{Smax}	t _{50 %}	Irrtumswahrscheinlichkeit	
t-Test	35	0,201	>0,674		

Der mittlere Pfortenschwellungswert $\mu_{N/E} = 252 \text{ mm}^3$ (Tab. 3) streute im Mittel um $\sigma_{N/E} \pm 78,9 \text{ mm}^3$ (Tab. 4); dies entsprach einem mittleren Variabilitätskoeffizienten (= Variabilität in Prozenten des Mittelwertes) von $V_{N/E} = 31,3$ (Tab. 4).

3.1.2. Korrelation von Tiergewicht und Schwellungsmaximum

Da die Schwellungswerte nicht nur von der Zeit, sondern möglicherweise auch vom Tiergewicht abhängig sind, wurde zunächst vor Durchführung eines Vergleiches zwischen Cyclophosphamid

(Endoxan)- und Kontrollgruppe die Korrelation von Tiergewicht und Schwellungsmaximum untersucht. Dabei ergab sich für ρ der Produkt-Moment-Korrelation ein Wert von 0,233, nach einem anderen Rechenverfahren für r ein von ρ wenig verschiedener Wert von 0,262. Diese von 1,0 deutlich unterschiedenen Werte für ρ und r zeigen, daß keine enge Korrelation zwischen den beiden Alternativmerkmalspaaren $S_{\max}$ bzw. μ und Tiergewicht (TG) bzw. μ besteht. Bei einem Vergleich der Pfortenschwellungswerte zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe durfte also ein Unterschied im Körpergewicht der Tiere unberücksichtigt bleiben.

$$\rho = 0,233$$

$$r = 0,262$$

$$r_{\text{pop}} = 0,0 \quad \text{Bei Zusammenhangslosigkeit der Merkmale TG und } S_{\max}$$

$$r = 1,0 \quad \text{Bei vollständiger Korrelation}$$

3.1.3. Rhythmik der entzündlichen Schwellung

Kurven (Abb. 4) und Tabellen (7) lassen erkennen, daß die Pfortenschwellung kein kontinuierlicher Vorgang ist; vielmehr schaukelt sich das Ödem bis zu einem maximalen Wert $S_{\max} = 100$ auf.

Um die Amplitude der rhythmischen Schwingungen der Pfortenschwellungskurve fassen zu können, mußte die Regressionskurve $S_f(t) = 30,3 \sqrt[2]{t_i} + 3,61 \sqrt[3]{t_i}$ ermittelt werden, um die gemessenen S-Werte, das heißt deren Mittel zum Zeitpunkt t_i , so angeordnet sind, daß die Summe der Abweichungen = 0 ist. Die errechnete Funktion gilt nur für den anstei-

genden, nicht jedoch für den absteigenden Ast der Schwellungskurve der Abb. 4. In der nachstehenden Kurve (Abb. 4) ist der Verlauf der mittleren Pfortenschwellungskurve ausgezogen und die dazu gehörige Regressionskurve gestrichelt dargestellt; die Zahlenwerte sind der Tab. 8 zu entnehmen. Es bleibt zu klären, inwieweit dieses in den graphischen Darstellungen der Abbn. 3 und 4 erkennbare Pulsieren der Pfortenschwellungszunahme ($\bar{S}_t = \pm 10,5$) Ausdruck eines Meßfehlers und inwieweit es selbständiges Phänomen ist. Als mittlere Meßwertstreuung konnte $\bar{S}'_t = \pm 1,4$ errechnet werden (Tab. 8) (- bei jeder Volumenmessung wurden 3 Werte notiert, von denen der mittlere als Maßzahl s genommen wurde). Im t-Test erwies sich der Unterschied zwischen $\bar{S}_t = \pm 10,5$ und $\bar{S}'_t = \pm 1,4$ als sehr signifikant. Wie Abb. 5 (mittlere Pfortenschwellungskurve ausgezogen und zugehörige Regressionskurve gestrichelt) veranschaulicht, liegen die effektiv beobachteten Schwellungswerte im weit schraffierten Bereich und sind nur zum kleinsten Teil (eng schraffierter Streifen) Ausdruck einer Meßfehlerstreuung.

Die Schwankungen der einzelnen S-Werte um die gestrichelte Regressionskurve in Abb. 4 sind bei jedem Tier größer als die Schwankungen der hier dargestellten mittleren S-Werte aller Tiere; bei der Mittelwertsberechnung kommt nämlich infolge der zufallsabhängigen Gegenläufigkeit der Einzelkurven im graphischen Bild eine Dämpfung der Schwingungen zustande.

Zur zahlenmäßigen Erfassung des Entzündungsrhythmus wurde im einzelnen folgendermaßen vorgegangen: Der gewogene Durchschnitt der Schwellungsmaximumzeiten $t_{S_{\max}}$ beträgt $\bar{t}_{S_{\max}} = 9,3$ Stunden. Wird nun die Pfortenschwellungskurve eines jeden

einzelnen Tieres so gestaucht bzw. gedehnt, daß das Schwellungsmaximum in jedem Fall nach 9,3 Stunden erreicht wird, so ändern sich lediglich die Steilheiten der einzelnen Kurven, während die Relationen der Schwellungswerte untereinander unverändert bleiben. Tab. 5 zeigt, wie sich mit der Angleichung aller t_{Smax} an den mittleren Wert $\bar{t}_{Smax} = 9,3$ auch die übrigen Zeitwerte t_S zu t_i nach der Formel:

$$t_i = \frac{t_S}{\bar{t}_{Smax}} \cdot \bar{t}_{Smax} \quad \text{ändern.}$$

Aus der Umrechnungstabelle 6 geht hervor, daß durch die Verschiebung der ursprünglichen Zeitwerte t_S eine dichtere Folge der neuen Zeitwerte t_i erhalten wird, als durch die alten 2,- bzw. 4-, 6-, 24-stündigen Abstände zunächst gegeben war. Zu jedem Zeitpunkt t_i läßt sich aus den in Tabelle 7 zusammengestellten S-Werten ein mittlerer S-Wert berechnen; zur Rechenvereinfachung werden bei den Untersuchungen diese Mittelwerte anstelle der einzelnen wirklich gemessenen S-Werte verwandt.

Nach Ermittlung einer nicht linearen Regressionskurve ($S_f(t) = 30,3 \sqrt[2]{t_i} + 3,61 \sqrt[3]{t_i}$), neben der die S-Werte so gruppiert sind, daß die Summe ihrer Abweichungen 0 ergibt, konnte die Stärke der Abweichungen zahlenmäßig erfaßt und von der Meßfehlerstreuung abgegrenzt werden (Abbn. 4 u. 5, Tab. 7 u. 8).

3.1.4. Zusammenfassende Übersicht über die wichtigsten Ergebnisse zum Einfluß von Cyclophosphamid (Endoxan) auf die akute Entzündung

Abschließend läßt sich zum Einfluß des Endoxans auf die akute Phase der entzündlichen Reaktion folgendes sagen:

1. Bei Applikation von Cyclophosphamid (Endoxan) in therapeutischen Dosen gleichzeitig mit der phlogistischen Noxe (Formalin subcutan in die Hinterpfote des Meerschweinchen) ist keine signifikante Beeinflussung der akut-entzündlichen Reaktion erkennbar.
2. Es besteht nur eine ganz schwache Korrelation zwischen Tiergewicht und Schwellungsmaximum, die bei geringer Streuung der Tiergewichte unberücksichtigt bleiben kann.
3. Die Pfortenschwellungskurven zeigen keinen gleichmäßigen kontinuierlichen Anstieg, sondern führen Schwankungen um eine Regressionskurve aus, die als spezifisch-entzündliches Phänomen Ausdruck einer rhythmischen Schwellungszunahme sind.

3.2. Chronische Entzündung

Insgesamt 21 Meerschweinchen wurde von einem Rückenschnitt aus links und rechts je ein im Durchmesser 10 mm und in der Dicke 1 mm messendes Polyäthylenschwämmchen in die fettarme subcutane Bindegewebsschicht über den Schulterblättern implantiert. Nach Ablauf von 14 Tagen wurden die Tiere getötet und neben der Bestimmung der Granulomfrisch- und der Granulomtrockengewichte die

histologische Untersuchung der Fremdkörpergranulome vorgenommen. Dabei erhielten 6 Tiere der Kontrollgruppe physiologische Kochsalzlösung intrakardial (4 Tiere als Stoß am 1. Tag und 2 Tiere fraktioniert am 1., 4. und 8. Tag), während bei der Versuchsgruppe (15 Tiere) 8 Meerschweinchen stoß- und 7 fraktioniert mit Cyclophosphamid (Endoxan) behandelt wurden.

In der unbewiesenen Annahme, daß in Bezug auf das gemessene Merkmal (Granulomgewicht) kein Unterschied zwischen Kochsalz- stoß- und Kochsalz-fraktioniert behandelten Tieren (N_S und N_F) besteht, wurden mit dem Ziel, eine größere Anzahl an Freiheitsgraden zu erhalten, diese beiden Stichproben als einheitliche homogene Population ($N_{S/F}$) der Versuchsgruppe (E) gegenübergestellt und auf die bei den Experimenten vorgenommene Differenzierung der Applikationsform bei den statistischen Untersuchungen teilweise verzichtet.

3.2.1. Beeinflussung der chronischen Entzündung durch Cyclophosphamid (Endoxan)

Wie Tab. 10 und Abb. 6 zu erkennen geben, liegt das mittlere Granulomfrischgewicht der Endoxan-Tiere deutlich unter, das der Kontrolltiere deutlich über dem gemeinsamen Mittelwert von $\mu = 286,2$ mg; dabei ist der Zentralwert $Z = 279,4$ mg, der im Gegensatz zum Mittelwert nicht durch zufällige Extremwerte beeinflusst wird, nur wenig von μ verschieden. Bei den Granulomtrockengewichten werden diese Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe noch deutlicher ($\mu = 43,9$; $Z = 41,5$) (Abbn. 7 - 9 und Tab. 10 - 12). Betrachtet man die Mittelwertsdifferenzen zwischen den einzelnen Gruppen (Tab. 14), so zeigt sich zunächst, daß die Unterschiede

zur Kontrollgruppe bei den fraktioniert mit Endoxan behandelten Tieren deutlicher sind als bei den stoßbehandelten. Im einzelnen mag dies der Tab. 14 entnommen werden. Es sei nur erwähnt, daß die Granulomfrischgewichte bei den fraktioniertbehandelten Endoxan-Tieren im Mittel 54,2 mg - das entspricht 17 % - unter denen der Kontrollgruppe liegen; bei den Granulomtrockengewichten macht dieser Unterschied sogar 37 % aus.

Im F-Test (Tab. 16) erlaubte das Verhältnis von je zwei Stichprobenvarianzen s_1 und s_2 die Annahme einer Populationshomogenität und schuf somit die Voraussetzung zur Prüfung der Signifikanz.

Im t-Test bzw. im Duncan-t-Test konnte gezeigt werden, daß die Wahrscheinlichkeit der Mittelwertsunterschiede der Granulomfrischgewichte signifikant und die der Granulomtrockengewichte sehr signifikant ist:

Wahrscheinlichkeit der Granulomfrischgewichtsunterschiede:
> 98 %

Wahrscheinlichkeit der Granulomtrockengewichtsunterschiede:
> 99 %

Damit ist der hemmende Einfluß des Cyclophosphamids auf die chronische Entzündung gesichert.

Eine durchgeführte Varianzanalyse (Tab. 17) ließ zudem erkennen, daß die Streuung der Gruppen- (Kontroll- und Endoxangruppe)-Mittelwerte nicht im Streubereich der Werte innerhalb einer Stichprobe lag, sondern daß die Mittelwerte der einzelnen Stichproben (N, ES, EF) aufgrund der gruppenspezifischen Tierbehandlung signifikant weiter voneinander abweichen, als sich dieses durch den bloßen Zufall deuten ließe.

Die Darstellung der kumulativen Häufigkeitsverteilung der Granulomfrischgewichte auf Gewichtsgruppen von je 20 mg in Abb. 8 und Abb. 15 liefert insofern ein etwas undeutliches Bild, als die einzelnen Versuchsgruppen unterschiedlich groß sind. Eine bessere graphische Darstellung der Tatsache, daß die Häufigkeit der Granulomfrischgewichte im unteren Maßzahlbereich bei den Cyclophosphamid (Endoxan)-behandelten Tieren vergleichsweise größer ist als die bei den Kontrolltieren, geben die Kurven der prozentualen kumulativen Häufigkeitsverteilung in Abb. 9 (Tab. 15).

3.2.2. Wirksamkeit des Cyclophosphamids bei fraktionierter und bei Stoßapplikation

Die Irrtumswahrscheinlichkeit eines Mittelwertunterschiedes bei den Granulomfrischgewichten beträgt zwischen den beiden Gruppen N (Kochsalz-behandelte Vergleichstiere) und ES (Tiergruppe, die Cyclophosphamid in einer einmaligen Stoßapplikation erhielt) zwischen 50 und 10 %, während sich die Granulomfrischgewichtsmittelwerte der beiden Gruppen N und EF (fraktioniert mit Cyclophosphamid behandelte Tiergruppe) mit einer großen Wahrscheinlichkeit unterscheiden (98 - 99 %). Ein Vergleich der Granulom-trockengewichte läßt die größere Wirksamkeit der fraktionierten Behandlung gegenüber der Stoßapplikation noch deutlicher werden (Tab. 18).

3.2.3. Beeinflussung der Proliferation und Exsudation durch Cyclophosphamid

Für das Verhältnis des Flüssigkeitsgehaltes zum Trockengewicht ergibt sich, daß der Flüssigkeitsanteil am Gesamtgewicht pro Trockengewichtseinheit bei den Endoxan-Tieren größer ist als bei den Kontrolltieren. Wie Abb. 10 und Tab. 11 zu erkennen geben, liegt $Q_{Fl/t}$ (= Granulomflüssigkeitsgehalt : Granulomtrockengewicht) bei der Versuchsgruppe um 39 % über dem der Kontrollgruppe.

Die tabellarisch wenig anschaulichen Mittelwerte und Mittelwertdifferenzen verdeutlichen die Säulendiagramme in Abb. 6 und 7. Zwar wird auch bei den Granulomfrischgewichten ein Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe deutlich, doch macht er sich viel stärker bei den Granulomtrockengewichten bemerkbar.

Das Säulendiagramm der Abb. 10 veranschaulicht ebenfalls das unterschiedliche Verhältnis von Granulomflüssigkeitsgewicht zu Granulomtrockengewicht ($Q_{Fl/t}$) bei den Endoxan-Tieren und bei der Kontrollgruppe, das bei diesen deutlich kleiner ist als bei jenen. Dies bedeutet eine relative Abnahme des proliferativen gegenüber dem exsudativen Anteil der Entzündung bei den Endoxan-Tieren.

3.2.4. Korrelation von Tiergewicht und Entzündungsstärke

In der Annahme, daß die unterschiedlichen Granulomgewichte möglicherweise durch die Unterschiede in der Gewichtszunahme der Tiere innerhalb von 14 Tagen (als Parameter

für den Gedeihgrad) zu erklären sind, wurde zum Beweis oder Ausschluß eines solchen Zusammenhanges zwischen Tiergewichtszunahme auf der einen Seite und Granulomfrischgewicht bzw. Granulomtrockengewicht bzw. Quotient $Q_{fl/t}$ auf der anderen Seite das mittlere standardisierte Abweichungsprodukt $\bar{Q}$ (bzw. r) errechnet (86). Die gefundenen Werte für $\bar{Q}$ bzw. r (Tab. 22) sind so sehr von 1,0 verschieden, daß man die Hypothese eines straffen linearen Zusammenhanges zwischen Körpergewichtszunahme und Granulomfrischgewicht bzw. Granulomtrockengewicht bzw. $Q_{fl/t}$ verwerfen und stattdessen eine echte antiphlogistische Wirksamkeit des Cyclophosphamids (= Endoxan) annehmen kann.

Da die für $\bar{Q}$ und r ermittelten Korrelationswerte den Nachteil einer unbefriedigenden Signifikanz hatten, wurde zusätzlich mit Hilfe einer Varianzanalyse gezeigt, daß der Unterschied im Körpergewicht der Tiere keinen Unterschied in der Größe der Granulomfrisch- bzw. der Granulomtrockengewichte bedingt; hingegen ist die Bedeutung der Behandlungsart für die Größe der Granulomfrischgewichte signifikant und für die Größe der Granulomtrockengewichte sehr signifikant (Irrtumswahrscheinlichkeit weniger als 1 %) (Tab. 23).

Das Körpergewicht der Tiere stieg während der 14tägigen Versuchsdauer von durchschnittlich 235 g um 106 g (das entspricht 45,1 %) auf 337 g an.

Die Abb. 11 und 12 (mit den dazugehörigen Tab. 16 und 17) zeigen die Veränderungen der Tiergewichte. Zwei Faktoren könnten möglicherweise den normalen Verlauf der ansteigenden Gewichtskurve bei den Endoxan-Tieren beeinflussen:

- 1) Der Stress der Äthernarkose und der Herzpunktion
am 1. bzw. 1., 4. und 8. Tag.
- 2) Die injizierte Substanz (Cyclophosphamid=Endoxan) selbst.

Die Stresswirkung der Äthernarkose und der Herzpunktion auf das Gedeihen der Tiere zeigt sich in einer Abflachung der Gewichtskurve über 1 - 2 Tage und zwar sowohl bei den Endoxan-Tieren als auch bei der Kontrollgruppe, die derselben Belastung unterworfen war. Während sich letztere jedoch am zweiten Tag nach der Punktion wieder erholt, erkennbar an der Gewichtszunahme in Abb. 10 und am Anstieg der Gewichtskurve in Abb. 11, fällt bei den Endoxan-Tieren die Kurve der 2tägigen Gewichtszunahme über weitere 2 Tage ab und bedingt somit in Abb. 11 die Rechtsverschiebung der ausgezogenen (Endoxan-Tiere) gegenüber der gestrichelten Kurve (Kontrolltiere). Die zwischen den Versuchsgruppen bestehende Differenz im Körpergewicht ist jedoch, wie oben gezeigt wurde, ohne Einfluß auf den Grad der Fremdkörpergranulombildung.

3.2.5. Streubreite der Granulomflüssigkeitsgewichte bei Versuchs- und Kontrollgruppe

Zwar zeigen bereits die Standardabweichungen und die Varianzen Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen (Eu.N), jedoch erlauben die Variabilitätskoeffizienten eine exaktere Beurteilung der verschieden großen Streuungen um die gruppenweise unterschiedlichen Mittelwerte, da hierbei der Einfluß des Mittelwertes auf die Breite der Streuung mitberücksichtigt wird.

Bei den Granulomfrischgewichten ist die Streuung bei den Kontrolltieren um nahezu 50 % größer als bei den Endoxan-Tieren. Auch bei den Granulomtrocken- bzw. Granulomflüssigkeitsgewichten wird ein entsprechender Unterschied zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe erkennbar.

3.2.6. Histologische Befunde: siehe Anhang (Seite 149)

3.2.7. Zusammenfassende Übersicht über die wichtigsten Ergebnisse zum Einfluß von Cyclophosphamid (Endoxan) auf die chronische Entzündung

Abschließend läßt sich zum Einfluß von Cyclophosphamid auf die chronische Phase der Entzündung folgendes sagen:

1. Cyclophosphamid hemmt die chronische Entzündung signifikant bzw. sehr signifikant.
2. Diese entzündungshemmende Wirkung wird in einer Dosishöhe erzielt, bei der kein signifikanter Einfluß auf das Körpergewicht der Tiere beobachtet wird.
3. Die fraktionierte Verabfolgung von Cyclophosphamid in kleineren Dosen entfaltet eine stärkere antiphlogistische Wirkung als die einmalige Stoßapplikation.
4. Die Proliferation wird in stärkerem Maße gebremst als die exsudative Phase der Entzündung.
5. Es besteht keine Korrelation zwischen der Tiergewichtszunahme innerhalb von 14 Tagen (als Parameter für den Gedeihgrad) und dem Granulomgewicht.

6. Ebenso beeinflußt das Anfangsgewicht der Tiere bei Versuchsbeginn die Stärke der entzündlichen Reaktion nicht.
7. Die Granulomflüssigkeitsgewichte streuen bei der Kontrollgruppe stärker als bei der Cyclophosphamid-behandelten Tiergruppe.

4. DISKUSSION

4.1. Diskussion der Methodik

4.1.1. Entzündungsmodell

4.1.1.1. Akute Entzündung

Vor etwa 100 Jahren führte COHNHEIM seine Untersuchung über Entzündung an der Schwimmhaut und der Zunge des Frosches durch. Heute findet man in der Literatur eine Vielzahl von Methoden angegeben, die alle dem einen Ziel dienen, den Einfluß antiphlogistischer Substanzen auf die Entzündung zu beurteilen; doch keine wird allein allen Seiten des Problems gerecht (32). Die Mehrzahl der dabei injizierten gewebssirritierenden Stoffe übt ihre Reizwirkung nicht direkt, sondern auf dem Umweg der Freisetzung verschiedener Mediatoren aus (Serotonin, 5-Hydroxytryptamin, Kinine (127/115/91)). Das morphologische Substrat ist dabei meist ein lokales Oedem, das weit stärker ist als dem Grad der Gefäßpermeabilitätssteigerung entspricht (44). Art und Dosis des entzündungserregenden Stoffes sollten so gewählt werden, daß eine möglichst örtlich begrenzte, quantitativ erfassbare und beliebig reproduzierbare Entzündung unter Vermeidung von Nekrosen, Stress- oder allergischen Reaktionen entsteht; je mehr und je höhere "Reaktions-Kreise", desto uneinheitlicher - je nach der individuellen Disposition - das örtliche Reaktionsbild (61).

Für welches Entzündungsmodell auch immer man sich entscheiden mag, es gilt stets die Einschränkung, daß nicht alle Seiten des entzündlichen Vorganges erfasst werden; das Fehlen eines Arzneiantagonismus in einem einzigen Ver-

such darf also niemals mit dem Fehlen jeglicher anti-phlogistischer Wirksamkeit der getesteten Substanz gleichgesetzt werden. Die Vielzahl der beschriebenen Entzündungsmodelle ist Ausdruck dafür, daß wohl keines die Vielfalt der entzündlichen Phänomene zu erfassen vermag.

Die wohl verbreitetste oft variierte Methode zur Erzeugung eines akut entzündlichen Oedems ist die Injektion eines Reizstoffes in die Hinterpfote der Ratte (129). Als erster beschrieb SELYE 1937 die offenbar artspezifische Überempfindlichkeit der Ratte gegen Hühnereiweiß (115/51), die sich darin äußerte, daß nach intraperitonealer Applikation einer geringen Menge unverdünnten oder bis 1 : 10 verdünnten Hühnereiweiß es zu einer generalisierten Urticaria-ähnlichen Hautschwellung kam, wobei die Akren (Pfoten, Schnauze und Genitalorgane (56/28) mit Ausnahme des Schwanzes besonders stark von der entzündlichen Schwellung betroffen waren. LÉGER und Mitarb. (75) arbeiteten dieses Phänomen zu einer Testmethode aus; sie empfahlen neben der intraperitonealen Applikationsform von Hühnereiweiß die intravenöse Injektion, die sehr viel foudroyanter (in 10 - 30 Min.) zu demselben dem angioneurotischen Oedem des Menschen vergleichbaren (75) Symptomen führte. Wegen der ausgedehnten allgemein-entzündlichen Erscheinungen hat sich die intraperitoneale und die intravenöse Applikationsart des Hühnereiweißes als wenig geeignet zur quantitativen Messung der anti-phlogistischen Wirksamkeit von Pharmaca erwiesen. Stattdessen findet die lokale Applikation der entzündlichen Noxe in die Hinterpfote zur Testung entzündungshemmender Substanzen immer mehr Verwendung (73/71/51/18/59/70/73/

117/82/89/137), wobei die subplantare Injektion zu einer deutlicheren und diffuseren Oedembildung führt, als die Injektion in den Pfotenrücken (71).

Da die Eiklarhyperergie mit einer Reihe von Fehlermöglichkeiten behaftet ist (129), die gewonnenen Ergebnisse nicht absolut reproduzierbar sind (33) und vor allem die von SELYE (115) ursprünglich angegebene intraperitoneale Injektion in einem bestimmten Versagerprozentsatz nicht zu der erwarteten Reaktion führt (50), erkennen eine Reihe von Autoren (33/51/43/44/82/61/56/92/91/125) die Brauchbarkeit des Formalins als gewebssirritierende Substanz. Dieses führt bei subplanter Injektion in die Hinterpfote zu einer dem Eiweißoedem vergleichbaren Schwellung, die sich von diesem jedoch in wesentlichen Punkten - wie z.B. Ablauf und pharmakologische Beeinflußbarkeit - unterscheidet. Die Zusammensetzung der Oedemflüssigkeit weicht beim Formalinoedem insofern von der anderer Oedemformen ab, als man die Albumine an der unteren und die Gammaglobuline an der oberen Normgrenze der Eiweißzusammensetzung des Blutes findet (43). Diese Relation der verschiedenen Eiweißfraktionen in der Oedemflüssigkeit entspricht am ehesten dem Bilde einer subakuten Entzündung. Die durch Formalin induzierte entzündliche Schwellung ist also sicher nicht allein Ausdruck einer Gefäßpermeabilitätsstörung (43), wie auch aus den Beobachtungen FRIMMERS und seiner Mitarb. (44) hervorgeht. Sie imitiert daneben weitere Phänomene des natürlich entstandenen entzündlichen Oedems. Auch im Schwellungsverlauf weist das Formalinoedem einige Besonderheiten auf, die es von den meisten übrigen Oedem-

arten (Dextran, Kaolin, 5-Hydroxytryptamin, Ovalbumin usw.) deutlich unterscheiden (43): nach dem relativ langsamen Einsetzen der Pfotenschwellung wird das Maximum erst nach 5 - 8 Std. erreicht; diesem Gipfel folgt ein ebenfalls verzögerter Schwellungsrückgang, wobei noch nach 72 Std. Oedemreste nachweisbar sind (43).

Neben der gebräuchlicheren Verabfolgung von Formalin und nativem Hühnereiweiß ist die Injektion der verschiedensten Substanzen zur Erzeugung eines akut-entzündlichen Pfotenoedems zur Anwendung gekommen. Trotz der chemischen und biochemischen Verschiedenheit rufen diese Substanzen auffälligerweise stets das Phänomen der Entzündung hervor. Es seien hier nur einige der verwendeten Substanzen aufgezählt: Serotonin (11/132/114/91/127); Bradykinin (128); Histamin (114/92); Compound 48 : 80 (z.n. 127); Kaolin (6/29); Dextran (34/61/127); Hyaluronidase (z.n. 127/106); Pyrexal (107/57); Polyvinyl-Pyrrolidon (131); Leucotaxin (84); Testikel-Extrakt (z.n. 127); Bienen- und Schlangengift (64).

An der Haut führten U.V.-Bestrahlung, lokale Wärmeapplikationen (137) und chemische Reizung durch Bepinselung mit Xylen (8/7) oder Krotonol (137) zu entzündlichen Reaktionen, die ebenso wie das Kontaktekzem (107) und die Histaminquaddel (137) zur Testung antiphlogistischer Substanzen verwendet wurden.

SPEIRS (120) und VÁRTERÉSZ empfehlen als Entzündungsmodell die intraperitoneale oder intrapleurale Injektion entzündungserzeugender Stoffe und untersuchen die Wirk-

samkeit von Pharmaka auf die exsudativen bzw. zellulären Entzündungsprodukte.

Als seltener Testmodelle findet man die auch beim Menschen anwendbare Hautfenstermethode, die Senfölschemosis (51), die Ohrkammer des Kaninchens (48) und die Ausnutzung der Tuberkulinreaktion beim Meerschwein (32) angegeben.

Es taucht die Frage auf, ob Gewebisirritans und Antiphlogisticum im Rahmen einer Versuchsanordnung wirklich die einzigen Faktoren sind, von denen Ablauf und Stärke der entzündlichen Reaktion abhängen, oder ob nicht auch andere noch unerkannte und daher bei der Messung vernachlässigte Größen die Versuchsergebnisse beeinflussen. So ist es denkbar, daß die Narkose oder die Umgebungstemperatur eine antiphlogistische Wirkung der geprüften Substanz vortäuschen. Auf der anderen Seite kann eine wirklich vorhandene, antientzündliche Wirkung auch unerkannt bleiben, sofern die Leerversuche unter weniger entzündungsfreundlichen Umweltbedingungen durchgeführt wurden als die Hauptversuche.

So weisen LÉGER und Mitarb. (75) sowie HILLEBRECHT (61) auf die Bedeutung einheitlichen Tiermaterials hin und zeigen, daß Alter und Geschlecht der Tiere den Entzündungsprozess in charakteristischer Weise modifizieren. SCHOETENSACK (106) findet eine strenge Korrelation zwischen Pfortenvolumen und Tiergewicht bzw. -alter; seinen Aussagen zufolge hat die Größe des zu Beginn des Versuches bestehenden Pfortenvolumens keinen Einfluß auf die

Stärke der oedematösen Schwellung.

Ein zweiter Faktor, der möglicherweise die Ergebnisse verfälscht, ist die Narkose. DOMENJOZ und Mitarb. (34) zeigen am Beispiel der Abschwächung der antiphlogistischen Wirkung von Natriumsalizylat auf das Formalinoedem der Ratte unter Numalnarkose, daß die Narkose die entzündungshemmenden Eigenschaften eines Antiphlogisticums beeinflussen kann. Die Untersuchungen von HILLEBRECHT (61) lassen hingegen keinen verzögernden Effekt der Narkose auf den Ablauf der Entzündung erkennen.

Größere Übereinstimmung besteht hinsichtlich der Bedeutung der Außentemperatur für die Stärke der entzündlichen Schwellung. Während COHEN und GOT (11) in ihrer Arbeit genaue Zahlenangaben machen, weisen andere Autoren (96/32) lediglich darauf hin, daß mit steigender Außentemperatur das Ausmaß der entzündlichen Schwellung zunimmt.

Einer der wohl am besten standardisierbaren Faktoren ist die Dosishöhe der gewebssirritierenden Noxe bzw. die Dauer ihrer Einwirkung. Auf die Beziehungen zwischen Dosis und Wirkung gehen ASCHHEIM (9), VOGIN (132) und LÉGER (75) ein.

Daß auch Applikationsort- und -art Faktoren sind, deren Standardisierung unumgängliche Voraussetzungen für die Echtheit der gewonnenen Ergebnisse sind, dafür sprechen die Arbeiten von LÉGER (75) und DELYE (112).

In der Vorstellung, daß das am häufigsten benutzte Modell der Pfotenschwellung wohl auch die geeignete Methode zur Testung antiphlogistischer Substanzen sei, und nach eigenen Erfahrungen mit anderen Testmethoden (Crotonölpinselung und U.V.-Bestrahlung der Haut, Terpentinjektionen) wurden die eigenen Versuche zur antientzündlichen Wirkung der zytostatischen Substanz Cyclophosphamid (Endoxan) am Formalin-induzierten Pfotenoedem des Meerschweinchens durchgeführt.

Da zunächst rein alternativ zu entscheiden war, ob Cyclophosphamid (Endoxan) die akute Entzündung beeinflußt oder nicht, konnte bei einer Stichprobengröße von 19 Tieren (Kontrollgruppe) bzw. 18 Tieren (Versuchsgruppe) eine ausreichende Signifikanz der Ergebnisse erwartet werden.

Die von mehreren Autoren (43) gemachte Beobachtung, daß die Pfotenschwellung beim Formalinoedem nur langsam über Stunden zunimmt, konnte bei den eigenen Versuchen bestätigt werden; diese Trägheit der Reaktion kam der exakteren Erfassbarkeit des Entzündungsablaufes zu Gute und war mit ein Grund dafür, daß dieser Substanz gegenüber anderen zu Beginn dieses Kapitels erwähnten injizierbaren Stoffen der Vorzug gegeben wurde. Formalin ist eine konzentrierte wässrige Lösung von Formaldehyd. Bei Injektionen in die Hinterpfote des Meerschweinchens war bereits eine Menge von 0,05 ml ausreichend, um eine schon nach wenigen Minuten einsetzende und im Verlaufe der nächsten Stunden zunehmende Schwellung der Pfote hervorzurufen, ohne daß Schwellungen anderer Körperteile

zu beobachten waren. Diese strenge Lokalisation der Schwellung erlaubte eine sichere Beurteilung der Entzündungsstärke wie sie beim Eiweißoedem der Ratte infolge der artsspezifischen Hyperergie (115/51) nicht möglich ist.

Als Applikationsort wurde, wie von den meisten Autoren empfohlen, die plantare Seite einer Hinterpfote gewählt. Bei schlechter Narkose des Tieres konnte es zur Verletzung der Gefäßarkaden kommen; das entstehende Hämatom machte dann eine Beurteilung des Formalinoedems unmöglich.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß beim Formalinoedem eine enge Korrelation zwischen Reizgröße und Reaktionsstärke besteht, mußte auch die applizierte Dosis standardisiert werden. Sie wurde in einer Höhe von 0,05 ml pro Tierpfote festgelegt.

Obwohl ein Einfluß der Narkose auf den Grad der entzündlichen Reaktion ungewiß ist, so wurde sie dennoch auf das Maß des Unvermeidlichen beschränkt. Lediglich zur subplantaren Injektion des Reizstoffes Formalin und zur intrakardialen Applikation der Testsubstanz Cyclophosphamid (Endoxan) (bzw. Kochsalz bei den Leerversuchen) mußten die Tiere in ein tieferes Stadium der Anästhesie versetzt werden (5-minütige Äthernarkose).

Analog der Temperaturabhängigkeit chemischer Reaktionen scheint auch bei biochemischen und biologischen Vorgängen die Temperatur ein nicht zu vernachlässigender Faktor zu sein. Aus diesem Grunde wurde bei allen Versuchen

auf eine konstante Raumtemperatur von 18° C Wert gelegt.

Der unter den vorgenannten Bedingungen abgelaufene Prozess läßt sich wie folgt beschreiben: 1) Deutlich werden einer über das Maß der Injektionsquaddel hinausgehenden Pfortenschwellung bereits nach 5 bis 10 Min. 2) Zunahme des Pfortenvolumens innerhalb der ersten 8 bis 12 Stunden bis zu einem maximalen Schwellungswert $S_{\max} = 100\%$ (im Mittel $\bar{S}_{\max} = 252 \text{ mm}^3$ bei einem Pfortengrundvolumen um 900 mm^3). 3) Erhebliche Schwankungen in der Größe der zweistündigen Schwellungszunahme nicht nur bei den Tieren untereinander, sondern auch beim einzelnen Tier, erkennbar am Aufschaukeln der Pfortenschwellungskurven um eine nicht lineare hyperbolische Regressionskurve. 4) An den steilen rhythmischen Anstieg der Kurve schloß sich ein flacher absteigender Schenkel an. Das vor Versuchsbeginn vorhandene Pfortengrundvolumen wurde dabei nach 48 bis 72 Stunden nahezu wieder erreicht.

4.1.1.2 Entzündungsmodell bei der chronischen Entzündung

Um die Wirksamkeit von Pharmaca auf die chronische Entzündung zu prüfen, werden in der Literatur Methoden angegeben, die fast ausnahmslos auf der Bildung eines Granuloms durch Fremdkörper, durch chemischen Reiz oder aber durch die Kombination beider Gewebsirritantien beruhen.

Die Vielzahl der beschriebenen Entzündungsmodelle ist hier

nicht so sehr - wie bei der akuten Entzündung - Ausdruck der Unzulänglichkeit einer einzelnen Methode; vielmehr imitiert hier jede der beschriebenen Versuchsanordnungen für sich alleine die Vorgänge der chronischen Entzündung weitgehend vollständig. Unterschiede in der technischen Durchführung der Entzündungsmodelle, in der Dosierbarkeit und quantitativen Meßbarkeit der entzündlichen Reaktion sind maßgebend für die Eignung eines Testes zur Prüfung antiphlogistischer Pharmaca.

Eine sehr beliebte Methode ist die von SELYE erstmals beschriebene und von vielen Autoren modifizierte (60/90/123) granuloma-pouch-Methode. Bei der ursprünglich von SELYE angegebenen Versuchsanordnung wird durch Injektion von Luft und Krotonöl im Unterhautfettgewebe der Ratte innerhalb von 14 Tagen ein exsudatgefülltes Granulombeutelchen erzeugt. BENITZ (16), BUSII (23) und TANAKA (125) empfehlen die subkutane Implantation eines Carra-geenin (= Extrakt aus Irisch-Moos) getränkten Baumwollkugelchens (Cotton-Wool-Ball oder - Pellet); die ersten Angaben darüber stammen von MEIER (1950) und ROBERTSON (1952) (1953). STALEY (121), HOPPE (62), CALNAN (25), FARHAT (40) und HARDESTY (55) benutzten die im Rahmen einer experimentell gesetzten Wunde beobachtete Granulation und Adaptation der Wundränder als Parameter für die Stärke der chronisch-entzündlichen Reaktion. Neben diesen oben erwähnten sehr beliebten Methoden des Granuloma-Pouch, Cotton-Pellet und der experimentellen Wundheilung sind in der Literatur weniger gebräuchliche Methoden zur Erzeugung einer chronisch entzündlichen Gewebsreaktion bekannt geworden. So beschreiben MASSHOFF (81) und

SMITH (118) die sterile Eiterung nach Injektion von Terpentinöl am Meerschweinchen, während WITKOWSKI (141) den Vorteil seiner Methode (Pustelbildung unter einem Croton-Ölpflaster) in ihrer Anwendbarkeit am Menschen sieht. BÜCHER (zit. n. 12) erzeugte durch intraperitoneale Injektionen einer Talksuspension bei Meerschweinchen eine Peritonitis. TANAKA und Mitarb. implantieren in Anlehnung an die Cotton-Ball-Methode ein formalinetränktes Filterpapierkügelchen. HOPPE (62) beurteilt die in einem hautfreien Areal durch einen Kunststoffring aufschießende Granulation, während TANAKA (125) die Eignung der WOESSNER'schen Methode (Implantation eines Ployvinylschwammes) zur Testung antiphlogistischer Pharmaca bestätigt.

Aus diesem geradezu unerschöpflichen Sortiment vielfältig modifizierbarer Methoden erschien die Implantation eines Polyäthylenschwämmchens wegen der einfachen technischen Durchführbarkeit und Standardisierbarkeit für die eigenen Untersuchungen besonders geeignet. Von einer Tränkung der etwa 10 mg schweren Schaumgummischeibchen wurde abgesehen, da der bloße Fremdkörperreiz zur Anregung einer ausgiebigen Gewebsgranulation genügte. Die Tränkungsdauer, das Austrocknen der Bällchen und die damit verbundene Konzentrationsänderung, das Auspressen der Tränkungsflüssigkeit bei der Implantation und unter dem Gewebedruck, die unkontrollierbare Diffusion in die Umgebung der Implantationsstelle wären zusätzliche Fehlerquellen gewesen, ohne daß sich dafür ein ausgleichender Vorteil geboten hätte. Die Implantationsdauer von 14 Tagen war gerade angemessen, um eine deutliche granulomatöse Um- und Durchwachsung des Schaumstoffscheibchens entstehen zu lassen, ohne daß Strukturveränderungen und dichte Verwachsungen mit der

bedeckenden Haut oder der Muskulatur auftraten, die eine sichere Abgrenzbarkeit des Granuloms nicht mehr gewährleisten hätten. Als Implantationsort wurde die relativ fettgewebsarme Bindegewebsschicht zwischen Rückenhaut und Rückenmuskulatur unterhalb des Schulterblattes gewählt. Damit waren zusätzliche unkontrollierbare mechanische Reizwirkungen durch Scheuern und Kratzen der Tiere an der irritierten Hautstelle ausgeschlossen; auch die Gefährdung durch eine Infektion war am Rücken nicht so groß wie an der Bauchseite oder in der Achselhöhle.

4.1.2. Quantitative Erfassung der entzündlichen Reaktion

Die strenge gegenseitige Abhängigkeit der verschiedenen Entzündungscharakteristika macht die Isolierung einer Komponente als Entzündungsparameter schwer, zumal nicht unbedingt eine Parallelität im Ablauf der Komponenten besteht. Beispielsweise ist das Auftreten von Proteinen in einem entzündeten Hautareal in Form eines makroskopisch sichtbaren Ödems nicht allein Ausdruck einer Kapillarpermeabilitätssteigerung, während das Ausmaß der Penetration kolloidaler Substanzen (z.B. Silber, Farbstoffpartikel) in das Entzündungsgebiet vollständig von dieser reguliert wird.

HILLEBRECHT stellt in seiner Arbeit (61) mehrere Forderungen auf, denen eine Methode zur objektiven Erfassung entzündlicher Veränderungen genügen sollte:

1) Wegen der dauernden Änderung des entzündlichen Bildes und wegen der statistischen Notwendigkeit zur simultanen

Messung an mehreren Tieren sollte die einzelne Messung nicht zuviel Zeit in Anspruch nehmen.

2) Um einen zeitlichen Längsschnitt des Entzündungsverlaufes zu erhalten, muß es möglich sein, mit der gleichen Messvorrichtung in regelmäßigen zeitlichen Abständen die Untersuchungen durchzuführen.

3) Dabei sollte die Fehlerbreite (Meßfehler) im Vergleich zur Variationsbreite (biologische Streuung) der Entzündungsreaktion möglichst klein sein.

Während PAGE und Mitarb. (93) die Stärke der entzündlichen Reaktion nach dem Ausmaß der Neutrophilen- und Mononukleären-Reaktion beurteilen, dehnen STERN und Mitarb. (123) ihre histologischen Untersuchungen bei der Entzündung auf die Erfassung des Mastzellzerfalls, der Kapillarpermeabilität, der Vasodilatation und der Eosinophilen aus.

Sehr viel größerer Beliebtheit erfreuen sich Methoden, die makroskopisch faßbare Veränderungen als Parameter für die Stärke der entzündlichen Reaktion wählen: Für Routinezwecke sehr brauchbar ist die Beurteilung der Exsudation (Pfortenschwellung oder Schwellung eines Hautareals) nach lokaler Applikation gewebereizender Substanzen; sie wurde von mehreren Autoren empfohlen (78/127/29/125). Eine weitere Möglichkeit zur Beurteilung entzündlicher Reaktionsstärke, von der bereits MENKIN Gebrauch machte (84), und die auch ASCHHEIM (8), GRAHAM (75), HEILMEYER (57), WILHELM (137) und BEACH (13) als geeignet für ihre Untersuchungen befunden hatten, bietet die Farbstoffabsorption im Entzündungsfeld. VOGIN (132) und ASCHHEIM (7/8/9) erwähnen die auf einem ähnlichen Prinzip wie die Farbstoff-

absorptionbestimmung beruhende Messung der Radioaktivität im Entzündungsgebiet nach intravenöser Gabe markierter Substanzen. Daß letzten Endes auch die Temperatur als Entzündungsparameter dienen kann, beweist die Arbeit von SCHOETENSACK (106), dessen Aussagen über die antiphlogistischen Wirkungen von Pharmaca auf den mit Hilfe eines Widerstandsthermometers gewonnenen Ergebnissen basieren.

Die Meßvorrichtung sollte so gehalten sein, daß sie über die Erfassung eines einzelnen momentanen Zustandsbildes hinaus auch die kontinuierliche Registrierung des Entzündungsverlaufes in seiner zeitlichen Abhängigkeit erlaubt. Da die entzündlichen Vorgänge auch unabhängig von der probzw. antiphlogistischen Wirkung einer applizierten Substanz mit individuell verschiedener Geschwindigkeit ablaufen, gibt es auch keine Voraussage für den Zeitpunkt der stärksten entzündlichen Veränderungen. Will man also den Gipfel der entzündlichen Veränderungen erfassen - wie dies bei der Testung antiphlogistischer Pharmaca erforderlich ist - so genügt eine einzelne Messung nicht, da erst der Abfall der Meßgrößen einen sicheren Anhalt für die Überschreitung des Gipfels bietet.

Die Frage, ob eine qualitative (alternativ: Schwellung ja oder nein), semiquantitative (visuelle Zuordnung zu verschiedenen Schwellungsgraden) oder quantitative (objektive nahezu fehlerlose Methode) Messung vorgenommen werden soll, wird im wesentlichen durch die Genauigkeit und Zuverlässigkeit bestimmt, mit der eine Aussage über den Grad der Entzündungshemmung durch pharmakologische Substanzen getroffen werden soll.

Erstrebenswert erscheint in jedem Fall die zeitlich kontinuierliche quantitativ-objektive Erfassung der entzündlichen Veränderungen.

4.1.2.2. Quantitative Erfassung der akut-entzündlichen Reaktion

Die meisten, in der Literatur angegebenen Bestimmungen antientzündlicher Wirksamkeit basieren auf der Ödemmessung, wobei sich bei den laufenden Messungen die Forderung nach Genauigkeit als limitierender Faktor erweist (132). Dabei werden je nach Versuchsanordnung entweder das Ausgangsvolumen der behandelten Pfote, der kontralateralen nicht behandelten Pfote, ein bei mehreren Tieren ermittelter Pfotenvolumendurchschnitt oder der Flüssigkeitsgehalt eines unbehandelten Hautlappchens als Vergleichswerte gewählt.

Die visuelle Beurteilung des Pfotenödems und die Schätzung mit Hilfe einer Gradskala von 0 bis 3 bzw. 4 + wird von vielen Autoren erwähnt bzw. verwandt (89/28/56/115/118), obwohl die Aussagegenauigkeit dieser Methode verständlicherweise sehr zu wünschen übrig läßt.

In Anbetracht der Unzulänglichkeit der visuellen Stadieneinteilung für die sichere Beurteilung antientzündlicher Wirksamkeit von Substanzen sind im Bestreben, möglichst quantitativ objektive Werte zu erhalten, verschiedene Messvorrichtungen in Anwendung gekommen: pletysmographisch (nach Ansicht HILLEBRECHTS (61) am brauchbarsten und genauesten), gravimetrisch, photogrammetrisch, Umfangmessung und Messung mit der Schublehre.

Bei der plethysmographischen Methode (33/127/29) wird das Volumen der Pfote bestimmt, indem man entweder wie SZPORNY (109) und HILLEBRECHT (61) das Volumen der beim Eintauchen der Pfote in ein bis zum Rand gefülltes Gefäß überlaufenden Flüssigkeit bestimmt, oder aber, indem die Steighöhe der Eintauchflüssigkeit in einem halbgeschlossenen U-System (WILHELM I und DOMENJOZ (136)) oder einem beiderseits offenen U-System ermittelt wird.

HEITE (59), der die Pfoten nach einer standardisierten Zeit ganz einfach im Tarsocruralgelenk exartikulierte und dann ihr Gewicht bestimmte, erkaufte sich die Einfachheit seiner Methode mit dem Nachteil, daß Ausgangswerte und Meßwerte nie an derselben Pfote ermittelt werden konnten. Abgesehen davon, daß der Zeitpunkt der Exartikulation wohl nur in den seltensten Fällen mit dem Zeitpunkt der stärksten entzündlichen Veränderungen zusammenfällt, sollte zur Bestimmung von $\text{mg} - \text{bzw. } 1/100 \text{ mm}^3$ - Unterschieden nicht eine Methode in Anwendung kommen, bei der Pfotengewichtsdifferenzen von Gramm im Bereich ihrer unvermeidlichen Fehlergrenzen liegen.

Die von HAGBERG (22) empfohlene photogrammetrische Messung entzündlicher Schwellungen ist in ihrem Aufbau und in ihrer Durchführung wohl zu aufwendig und erscheint deshalb für Routinezwecke ungeeignet.

Pfotenumfangsbestimmungen und Messungen mit der Schublehre, wie sie von manchen Autoren angegeben werden, sind wohl kaum ein exaktes Maß für den Grad der entzündlichen Volumzunahme, die sich ja logarithmisch, nicht aber linear

mit dem Pfortenumfang oder -durchmesser ändert.

Nach Injektion gewebssirritierender Substanzen in die Bauch- oder Rückenhaut der Versuchstiere kommt es zur Ausbildung einer mehr oder weniger umschriebenen entzündlichen Hautschwellung in diesem Bereich. Das Ausmaß der Abwanderung und der Absorption eines intravenös applizierten Farstoffes (meist Trypan-blau) wird von manchen Autoren semiquantitativ visuell nach Stadien beurteilt: 0 - 3 bzw. 4 +. (84/56/92/91/137/102) Auch der Durchmesser der entstandenen Hautschwellung (57/125) oder ihr Gewicht im Vergleich mit einem gleichgroßen exzidierten nicht entzündlich veränderten Hautlappen werden als quantitativ-objektiv fassbare Entzündungsparameter herangezogen. Daneben wird der verstärkte Abstrom von Blutprotein in das Entzündungsfeld demonstriert durch die Bestimmung der Blut-Gewebe-Clearance (c) radioaktiver Substanzen (Rb^{86} , J^{131}) (132/7/8/9). Nach der Formel $C = \text{Impulse/Min.} / g$ getrockneter Haut: $\text{Impulse/Min.} / \text{ml Blut bestimmte ASCHHEIM (9) die Menge Blut, die in der Zeiteinheit durch 1 g Haut (Trockengewicht) von einer radioaktiven an Albumin gebundenen Substanz völlig gereinigt wird.}$

Bei den eigenen Messungen der entzündlichen Pfortenschwellung wurde der plethysmographischen Methode gegenüber den verschiedenen gravimetrischen, photogrammetrischen, Umfangs- und Schublehren-Messungen der Vorzug gegeben. Parameter mit geringem Schwankungsbereich, wie Pfortenumfang oder Pfortendurchmesser, erlauben nur unsichere Angaben über ihre Unterschiede bei Versuchstieren und Kontrolltieren. Am genauesten schien die Beurteilung der Steig-

höhe der Eintauchflüssigkeit in einem U-Röhrchen. Bei dieser Methode ist die zeitraubende Manipulation des Nachfüllens, wie sie bei allen Überlaufmodellen nötig ist, überflüssig. Auch die Viskosität der Eintauchflüssigkeit gewinnt keine Bedeutung, im Gegensatz zu den Überlaufmethoden, bei denen das Volumen nur dann exakt gemessen wird, wenn es sich durch eine ganzzahlige Tropfenzahl ausdrücken läßt. Wenn auch die Stufen dieser Meßtreppe durch die Anwendung von Brodie'scher Lösung verkleinert werden können, so bleibt der Meßfehler im Bereich eines Tropfenvolumens sowohl beim Auffüllen des Eintauchgefäßes als auch beim Überlaufen der Flüssigkeit durch das Eintauchen der Pfote unvermeidlich. Das Problem, das sich bei der Beurteilung der Steighöhe stellt, liegt in der Genauigkeit der Ablesung des Flüssigkeitsmeniskus, der selbst bei möglichst englumigem Pforteneintauchgefäß nur geringen Schwankungen unterliegt. Der Stand des Meniskus im Steigrohr zeigt in jedem Fall das Volumen der eingetauchten Pfoten exakt an. Dabei stellt die Ablesegenauigkeit den einzigen, die Exaktheit der Ergebnisse limitierenden Faktor dar. Es mußte also eine Versuchsanordnung erdacht werden, bei der sich geringe Schwankungen des Flüssigkeitsspiegels im Eintauchgefäß durch möglichst große Schwankungen im kommunizierenden Steigrohr ausdrücken ließen. Durch Schräglage des Steigrohres konnte eine deutliche, jedoch immer noch unbefriedigende Steigerung der Ablesegenauigkeit erzielt werden. Erst die indirekte Messung des Pfortenvolumens über die Verkürzung eines in die Eintauchflüssigkeit ragenden elektrischen Widerstandes (s. S.18, Kap. 2.2.2.) eröffnete die Möglichkeit, je nach Wahl des elektrischen

Meßgerätes, der Stromstärke und des Widerstandes, den Meßfehler beliebig klein zu halten. Bei dieser Methode wurden geringe Schwankungen im Flüssigkeitsspiegel infolge Zunahme des Pfortenvolumens als Zeigerausschlag über den ganzen Skalenbereich des elektrischen Meßgerätes registriert. Der große Vorteil dieses Systemes lag nicht nur in der Genauigkeit, sondern auch in der Einfachheit der Ablesung.

Da eine Benetzung der eingetauchten Pfote, und damit ein Verlust der Eintauchflüssigkeit, der sich im Laufe mehrerer Messungen summiert, unvermeidlich ist, solange Kohäsionskraft und Adhäsionskraft der Eintauchflüssigkeit nur wenig voneinander verschieden sind, wurde eine Verbesserung des Systemes dadurch erreicht, daß das U-System anstatt mit Wasser mit Quecksilber gefüllt wurde. Neben dem Vorteil der größeren elektrischen Leitfähigkeit des Quecksilbers wurde hierbei vor allen Dingen eine Benetzung der Pfote und damit ein stetes Absinken der Nullstellung des Systemes vermieden. Mußte zuvor neben dem Endwert stets noch der Ausgangswert der Steighöhe abgelesen werden, so war nun durch Fixierung des Ausgangswertes eine Verkürzung der einzelnen Meßdauer erreicht. Das System erlaubte laufende Messungen, ohne daß - wie z.B. bei allen Überlaufmethoden - eine dauernde mit zusätzlichen Fehlerquellen behaftete Einregulierung auf die Ausgangsstellung notwendig gewesen wäre. Im Schnitt wurden an 20 Tieren 120 Messungen je nach Arbeitstempo innerhalb von 10 - 15 Min. vorgenommen; dabei entfielen auf die einzelne Messung 5 - 8 'sec. Die Geschwindigkeit, mit der ohne Einbuße der Exaktheit die einzelne Messung vorgenommen werden konnte, war nicht nur wegen der Er-

sparnis eines unliebsamen zeitlichen Aufwandes begrüßenswert, sondern auch eine Erfordernis im Rahmen der Beurteilung des Entzündungsablaufes in seiner zeitlichen Abhängigkeit.

Die benutzte elektro-plethysmographische Meßvorrichtung genügte - im Gegensatz zu vielen anderen in der Literatur beschriebenen Systemen - folgenden Anforderungen an ein Meßsystem zur Erfassung akut-entzündlicher Veränderungen:

- 1) Es konnte eine quantitativ-objektive Beurteilung der entzündlichen Pfortenschwellungen vorgenommen werden.
- 2) Die Fehlerbreite lag unter 1 % und war damit im Vergleich zur Variationsbreite (biologische Streuung) der Schwellungsreaktion klein.
- 3) Die Bestimmung des absoluten Anfangsvolumens war möglich.
- 4) Einfachheit des Meßvorganges und Direktheit der Ableitung erlaubten es, unter minimalem zeitlichem Aufwand mehrere Tiergruppen simultan unter gleichen äußeren Versuchsbedingungen zu untersuchen.
- 5) Da der Meßvorgang keine Kupierung des entzündlichen Schwellungsprozesses erforderlich machte - wie dies z.B. bei der Exartikulationsmethode notwendig ist - war eine Darstellung eines zeitlichen Längsschnittes des Entzündungsablaufes möglich.

4.1.2.3. Quantitative Erfassung der chronisch-entzündlichen Reaktion

Bei der chronischen Entzündung kommt es nicht so sehr auf die Erfassung des Entzündungsverlaufes an, sondern viel

mehr auf die einzeitige Beurteilung der Proliferation, die sich im Verlaufe von mehreren Tagen entwickelt hat. Die Art des morphologischen Substrates, das im Gegensatz zur flüchtigen akut entzündlichen Schwellung nur sehr trägen Schwankungen unterliegt, legt eine quantitativ-objektive Messung derart nahe, daß eine semiquantitativ-subjektive visuelle Beurteilung in der Literatur wohl von kaum einem der Autoren in Betracht gezogen wird.

DORFMAN (35) und HOPPE (62) bestimmen Feucht- und Trockengewichte sorgsam aus dem Gewebsverband herausgelöster Granulome.

STALEY (121) und BRUNIUS (22) untersuchen die Wirkung von Pharmaca auf die experimentelle Wundheilung; bei dieser Methode ist die Reißfestigkeit ein leicht meßbares Korrelat für den Grad der Proliferation.

MÖRSDORF (88) beobachtete ein Absinken des Ascorbinsäuregehaltes der Nebenniere unter der Einwirkung antiphlogistischer Substanzen und zeigt in diesem Zusammenhang eine weitere Möglichkeit zur Testung von Pharmaca auf.

Bei der Beurteilung des Granuloms, das nach 14tägiger Belassung eines Schaumswammscheibchens unter der Rückenhaut des Meerschweinchens gewachsen war, kam es bei den eigenen Untersuchungen neben den makroskopischen auch auf die histologischen Veränderungen an.

Durch einen kräftigen Genickschlag wurden die Tiere im Ätherrausch getötet und entblutet, die beiderseits ge-

wachsenen Granulome sorgfältig herauspräpariert und ihr Frischgewicht (G_{fr}) augenblicklich auf einer Waage bestimmt. Während eines der beiden Gewebebällchen zunächst in Formalin fixiert, später dann in Paraffin eingebettet und histologisch untersucht wurde, gab das Trockengewicht (G_t) des zweiten Granuloms nach 24stündiger Gefriertrocknung (Lyophilisation) Auskunft über das Verhältnis von Exsudation und Proliferation bei chronisch-entzündlichen Veränderungen. Dieses Verhältnis wurde ermittelt als Quotient G_{fl} (= Granulomflüssigkeitsgehalt = $G_{fr} - G_t$): G_t . Der Fehler, der dadurch zustande kam, daß Exsudation nicht = G_{fl} und Proliferation nicht = G_t ist, war insofern bedeutungslos als es auf einen Vergleich der $Q_{fl/t}$ zwischen den einzelnen Tiergruppen ankam.

Bei der histologischen Beurteilung der Granulome wurde visuell semiquantitativ Wert gelegt auf die Dicke des Granulationsmantels, die Dichtigkeit der zellulären Bestandteile (Fremdkörperriesenzellen) und den Grad der Gefäßneusprossung.

4.1.3. Durchführung der cytostatischen Behandlung

4.1.3.1. In der Literatur

Die Frage nach Dosishöhe, Applikationsform und -ort stellt sich bei der auf ihre antiphlogistische Wirksamkeit zu testenden Substanz mit gleicher Dringlichkeit wie beim Phlogisticum.

Dosislimitierender Faktor ist bei jeder therapeutischen Maßnahme das Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen und Intoleranzerscheinungen. Dabei bleibt zu berücksichtigen, daß offenbar keine lineare Korrelation zwischen Dosis und Wirkung besteht (129), so daß bei einer Verdopplung der verabfolgten Substanzmenge mit einer Potenzierung der Nebenwirkungen zu rechnen ist.

Während einige Autoren (79/105) die auf ihre antiphlogistische Wirksamkeit zu prüfende Substanz Cyclophosphamid (Endoxan) in einer Dosishöhe verabfolgen, die an die LD₅₀ (etwa 200 mg/kg KG) herankommt oder diese sogar überschreitet, versucht eine zweite Gruppe von Autoren (25/62/26) mit einer kleinen risikolosen und nebenwirkungsfreien Menge auszukommen; letzteres Vorgehen wird unterstützt durch die sicher berechnete Vorstellung, daß der antientzündliche Effekt großer Dosen lediglich als Ausdruck einer allgemeinen körperlichen Reduktion zu werten sei. Folgende Nebenwirkungen sind als früheste Zeichen einer Überdosierung von Cyclophosphamid (Endoxan) bzw. Stickstofflost beschrieben worden: Vomitus, Anorexie und Diarrhoe (als Intoxikationserscheinungen von seiten des Magen-Darm-Traktes) (126/12), deren natürliche Folge auch stets ein beträchtlicher Gewichtsverlust der Tiere ist. PHILLIPS und Mitarb. (97) weisen daneben auf zentral-nervöse Störungen (Krämpfe und Exzitation) hin, die neben leukopenischen und gastro-intestinalen Intoleranzsymptomen bei zu hoher Dosierung (LD₅₀) von Stickstofflost auftreten und sprechen in diesem Zusammenhang vom "Verzögerten Letalitätssyndrom". Mit dem gastroenterologischen Effekt verschiedener Antiphlogistica haben sich besonders WITTE (32) und ANDERSON (32) beschäf-

tigt. Sie gelangten bei diesen Untersuchungen zu der Vorstellung, daß das Auftreten derartiger Störungen als Zeichen antiphlogistischer Wirksamkeit einer Substanz zu werten sei. In beiden Fällen, bei der Entzündungshemmung ebenso wie bei den gastroenteralen Unverträglichkeitsercheinungen handelt es sich nämlich um denselben Vorgang einer Mucopolysaccharidirritation. Das Auftreten von Störungen lediglich seitens des Magen-Darm-Traktes muß also nicht zur Annahme einer Cyclophosphamid-(Endoxan)-Überdosierung verleiten, sondern ist für sich allein auch Manifestation antientzündlicher Wirksamkeit. Treten derartige Symptome beim Menschen auf, so besteht die Möglichkeit, sie durch Gabe von Vit. C, Pyridoxin oder Antiemetica zu mildern oder zu kupieren.

Der Zeitpunkt der Applikation wird im wesentlichen von der Schnelligkeit der Resorption und der Dauer der Eliminierung bzw. Inaktivierung bestimmt. Den Beobachtungen BROCKS und HOHORSTS (21) zufolge ist der Aktivitätsgipfel von Cyclophosphamid (Endoxan) im Blut bereits 15 Min. nach Injektion erreicht und hält sich 1-2 Stunden nahezu konstant. In dieser Erkenntnis empfiehlt sich also, Endoxan entweder kurze Zeit vor (33/127/129/18/73/50) oder simultan (89/69) mit der phlogistischen Noxe zu applizieren. Nur wenige Autoren beginnen bereits mehrere Tage vorher (33/82/132) mit der antiphlogistischen Therapie. ERLSBACHER und Mitarb. (38) halten die Applikation des Antiphlogisticum wenige Tage vor Setzen des entzündlichen Reizes für effektvoller als die Injektion nach Entzündungsbeginn.

Mit der Frage, ob die Stoßbehandlung mit relativ hohen, zeitlich jedoch länger auseinanderliegenden Dosen oder aber ob die fraktionierte Verabfolgung kleiner Dosen in kürzeren zeitlichen Abständen den besseren Effekt zeige, haben sich besonders DRUCKREY und Mitarb. (36) befaßt. Aus ihren Beobachtungen, daß die toxischen Eigenschaften des Cyclophosphamids (Endoxan) stärker kumulieren als die kurativen, resultiert die Empfehlung, diese Substanz hochdosiert in mehrtägigen Abständen zu verabreichen (z.B. 25 mg/kg Körpergewicht alle 4 Tage oder 100 mg/kg Körpergewicht alle 16 Tage). Im Widerspruch dazu empfehlen KLIMA und Mitarb. (72) die Behandlung mit sehr kleinen ~~Los~~tdosen über längere Zeit; ebenso versprechen sich ERLSBACHER und Mitarb. (38) von der fraktionierten Cyclophosphamidgabe einen besseren therapeutischen Erfolg als von der Stoßbehandlung.

Es bestehen grundsätzlich 2 Möglichkeiten zur Applikation des Antiphlogisticums: nämlich erstens lokal und zweitens allgemein. Da es sich bei fast allen antientzündlichen Substanzen - so auch beim Cyclophosphamid - um Stoffe handelt, die bei lokaler Verabfolgung Reizerscheinungen von seiten des Gefäßbindegewebes provozieren (73/44), erscheint die lokale Applikation einer gewebe-reizenden Substanz besonders dann absurd, wenn ihre entzündungshemmende Wirkung untersucht werden soll. Insofern ist es wenig einsichtig, wenn einige Autoren (69/22/50/89) unter Berufung auf die bessere Wirksamkeit die lokale Applikation der Testsubstanz propagieren. Unterschiedliche lokale Resorptionsverhältnisse stellen einen weiteren Unsicherheitsfaktor dar, so daß sich die

Mehrzahl der Autoren (57/22/129/18/73/62/4/105/26) für die allgemeine Applikation des Antiphlogisticums ausspricht. Beim Cyclophosphamid (Endoxan) ist die Frage lokal oder allgemein insofern mißig, als lokal appliziertes Endoxan erst in den Lebermikrosomen aktiviert wird und letztlich doch hämatogen an die Injektionsstelle zurücktransportiert wird, um dann erst seine cytostatische oder antiphlogistische Wirkung zu entfalten.

4.1.3.2. Cytostatische Behandlung bei den eigenen Versuchen

Die gewählte Gesamtdosis von 100 mg/kg Körpergewicht Cyclophosphamid (Endoxan) entspricht der Empfehlung von DRUCKREY und Mitarb. (36); lediglich etwa 3 % der Tiere zeigten dabei eine Einschränkung des Allgemeinbefindens. Bei allen übrigen Tieren hatte die Behandlung keinen signifikanten Einfluss auf das Körpergewicht, die Leukozytenzahl des peripheren Blutes oder auf das Allgemeinbefinden.

In der von DRUCKREY und Mitarb. (36) übernommenen Erkenntnis, daß die therapeutische Wirksamkeit des Cyclophosphamids (Endoxan) sehr rasch eintritt und bereits 5 bis 15 Min. nach der Applikation ein 1 - 2 Stunden anhaltender maximaler Wirkspiegel im Blut erreicht ist, wurden die Injektionen des Antiphlogisticums (Endoxan) und des Phlogisticums (Formalin) gleichzeitig vorgenommen. Bei den fraktioniert behandelten Tiergruppen fielen die Zweit- und Dritt-Injektionen in die Zeit der

14tägigen Granulationsbildung.

Da zur Frage: Stoß- oder fraktionierte Behandlung mit Cyclophosphamid (Endoxan) in der Literatur eine Vielzahl widersprüchlicher Empfehlungen vorliegen, erhielt eine Versuchsgruppe 100 mg/kg Körpergewicht Endoxan als Stoß am Tage des Versuchsbeginns, und eine zweite Gruppe je 1/3 dieser Gesamtdosis auf den 1., 4. und 8. Versuchstag verteilt. Dabei muß gesagt werden, daß diese letzte, hier als fraktioniert bezeichnete Applikationsform einen Kompromiß zwischen der von DRUCKREY (36) empfohlenen Stoßbehandlung im Abstand von 16 Tagen und der von KLIMA und Mitarb. (72) propagierten täglichen Behandlung mit kleinsten Dosen darstellt.

Die Überlegung, ob es sinnvoller sei. Cyclophosphamid (Endoxan) lokal in den Entzündungsherd oder allgemein entzündungsherdfern zu verabfolgen, war insofern von vornherein zugunsten der Allgemeinapplikation entschieden, als Endoxan den Untersuchungen DRUCKREYS (36) und BROCKS (20/21) zufolge erst in den Lebermikrosomen aktiviert werden muß, bevor es in jedem Fall hämatogen zum Wirkungsort gelangt. Um Schwankungen im 1 - 2 Stunden anhaltenden, für den therapeutischen Effekt bedeutungsvollen Blutwirkungsspiegel durch unterschiedliche Resorptionsgeschwindigkeiten zu vermeiden, wurde Endoxan direkt intrakardial verabfolgt. Bei der Injektion in die Rückenhaut oder in den Bauchraum sind Größe und Blutversorgung der Gewebetaschen nicht standardisierbare Faktoren, die den Grad der Resorptionsgeschwindigkeit variieren können.

4.2. Diskussion der eigenen Ergebnisse

Eingangs möchte ich darauf hinweisen, daß die Aussagekraft fast aller Ergebnisse mit Hilfe des Signifikanztestes geprüft wurde; es handelt sich also nicht um die Propagierung von Hypothesen, um die Angabe von Vorstellungen und Tendenzen, sondern um die Festlegung statistisch verifizierter Untersuchungsergebnisse.

4.2.1. Akute Entzündung

Die Messungen an der durch subkutane Formalininjektion geschwellenen Hinterpfote des Meerschweinchens zur Beurteilung der antiphlogistischen Wirksamkeit des gleichzeitig mit der phlogistischen Noxe intrakardial applizierten Cyclophosphamids (Endoxan) erbrachten die folgenden Ergebnisse:

Cyclophosphamid (Endoxan) beeinflusst die akut-entzündliche Reaktion nicht. Weder im zeitlichen Ablauf noch in der Stärke der Reaktion werden signifikante makroskopisch faßbare Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe deutlich. Bei einer Pfortenschwellung von durchschnittlich 252 mm^3 differieren die Mittelwerte der beiden Tiergruppen um die im Zufallsbereich liegende Schwankung von 5 mm^3 .

Cyclophosphamid (Endoxan) scheint also an keiner Stelle hemmend in den komplexen Mechanismus der akut-entzündlichen Reaktion einzugreifen.

Um zu erfahren, in welchem Grad das Körpergewicht der Tiere die Pfotenschwellung beeinflusst, wurde die Korrelation zwischen Tiergewicht und Schwellungsmaximum untersucht. Der ermittelte Koeffizient $r = 0,262$ ist soweit von 1,0 verschieden, daß praktisch eine Zusammenhangslosigkeit der beiden Größen unterstellt werden kann. Die geringfügigen Schwankungen der Tiergewichte waren ein weiterer Grund dafür, die möglicherweise bestehende geringfügige Korrelation zwischen Körpergewicht und Pfotenschwellung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse zu vernachlässigen.

Bei der zweistündlich stufenweisen Notierung des zeitlichen Schwellungsablaufes kam bei allen Tieren ein Phänomen zur Beobachtung, das in unmittelbarem Zusammenhang mit dem akut-entzündlichen Geschehen zu stehen schien: die bis zum Schwellungsmaximum gemessenen Schwellungswerte lagen nicht etwa - wie zu erwarten gewesen wäre - auf der hyperbolisch geschwungenen kontinuierlich ansteigenden Kurve, sondern streuten sehr stark um eine derartige gedachte Regressionskurve; der Grad der Schwellungszunahme in der Zeiteinheit (hier: 2 Stunden) war also dauernden periodischen Schwankungen unterworfen, so daß es sich mehr um ein Aufschaukeln als um ein kontinuierliches Anschwellen der akut-entzündlichen Reaktion handelte. Nach Vereinheitlichung der Kurvenverläufe auf eine für alle Tiere geltende mittlere Zeitspanne $\bar{t}_{\text{Smax}} = 9,3$ Std., in denen das Schwellungsmaximum erreicht wurde, konnte gezeigt werden, daß die Amplitude dieser rhythmischen Schwingung mit $+ 10,8 \text{ mm}^3$ mehr als 8 % der maximalen Schwellung ausmächte. Mit einer hohen Signifikanz ließ

sich zeigen, daß diese Schwankungen keineswegs Ausdruck einer Meßfehlerstreuung waren (mit $\pm 1,4 \text{ mm}^3$ weniger also 0,6 % der S_{max}), sondern daß es sich dabei um ein spezifisch-entzündliches Phänomen handeln mußte. Da wohl kaum anzunehmen ist, daß mit den fraktioniert alle 2 Stunden vorgenommenen Pfortenschwellungsmessungen jedesmal auch das Maximum der Abweichung von der hyperbolischen Regressionskurve erfaßt wurde, wird die eigentliche biologische Schwankungsbreite in jedem Falle noch höher anzunehmen sein. Die Angabe der Amplitudenhöhe in Prozenten des maximalen Schwellungswertes wurde deshalb gewählt, weil S_{max} als Maßstab akut-entzündlicher Gewebsreaktivität Gradmesser für andere akut-entzündliche Phänomene sein kann.

4.2.2. Chronische Entzündung

Cyclophosphamid (Endoxan) hemmt die chronische Entzündung signifikant bzw. sehr signifikant. Nach einer Implantationsdauer von 14 Tagen hatte sich um das Schaumgummi-scheibchen ein Gewebegranulom gebildet, dessen Frischgewicht im Mittel 286,2 mg und dessen mittleres Trockengewicht 43,9 mg betrug. Die Granulomfrischgewichte lagen im günstigsten Fall (bei der mit fraktionierten Endoxandosen behandelten Versuchsgruppe) 17 %, die Granulomtrockengewichte sogar 37 % unter den entsprechenden Größen der Kontrollgruppe. Die hohe bzw. sehr hohe Signifikanz (Irrtumswahrscheinlichkeit teilweise kleiner als 1 %), mit der diese Werte erreicht wurden, sprach gegen eine Zufälligkeit der Ergebnisse.

Der antiphlogistische Effekt des Cyclophosphamids (Endoxan) manifestierte sich bereits in einer Dosishöhe, bei der kein signifikanter Einfluß auf das Körpergewicht oder auf das Allgemeinbefinden der Tiere erkennbar war. Der beobachtete Unterschied in der Tiergewichtszunahme (TGZ) über 14 Tage bei Versuchs- und Kontrollgruppe von durchschnittlich 23 % war nicht signifikant und keinesfalls als Ausdruck einer allgemein-körperlichen Reduktion der Tiere zu werten. Sie schien vielmehr Folge der 2 - 4 Tage nach der Injektion von Endoxan beobachteten verminderten Nahrungsaufnahme zu sein, durch die in Abb. 12 eine Rechtsverschiebung der Endoxantierkurve zustande kam. Wie in der Literatur angegeben (32), ist eine bei der antientzündlichen Therapie beobachtete kurzfristige Anorexie nicht Zeichen toxischer Überdosierung, sondern findet als Störung des Mucopolysaccharidstoffwechsels ihre Erklärung im Rahmen des antiphlogistischen Wirkungsmechanismus. Störungen im Sinne des von PHILIPS und Mitarb. (97) beschriebenen "verzögerten Letalitäts-syndroms" machten sich bei keinem der Tiere bemerkbar. Da zudem, wie auf Seite 74 nochmals gezeigt werden wird, keine Korrelation zwischen Tiergewichtszunahme innerhalb von 14 Tagen und Granulomgewicht bestand, mußte also angenommen werden, daß bei der Gabe von 100 mg Cyclophosphamid pro kg Körpergewicht eine echte antiphlogistische Wirksamkeit manifest wurde. Von einer scheinbar antientzündlichen Wirkung als Teilsymptom allgemein-körperlicher Reduktion, konnte wegen der fehlenden toxischen Überdosierungserscheinungen nicht gesprochen werden.

Die fraktionierte Verabfolgung von Cyclophosphamid alle 4 Tage in kleineren Dosen entfaltete eine stärkere anti-entzündliche Wirkung als die einmalige Stoßapplikation. Während bei den Stoßbehandelten Versuchstieren das mittlere Granulomfrischgewicht (G_{fr}) nur 11 % unter dem der Kontrollgruppe lag, betrug diese Differenz bei der fraktioniertbehandelten Versuchsgruppe 17 %. Die Werte der Granulomtrockengewichte waren mit 26 % bzw. 37 % noch eindrucksvoller. Auch bei den Granulomflüssigkeitsgewichten (G_{fl}), dem Verhältnis von $G_{fl} : G_t$ ($Q_{fl/t}$) und bei der TGZ in 14 Tagen wurden diese Unterschiede deutlich.

Die Proliferation wurde durch Cyclophosphamid in stärkerem Maße gebremst als der exsudative Anteil der Entzündung. Diese Feststellung muß getroffen werden, wenn man die Verhältnisse der Granulomflüssigkeitsgewichte zu den Granulomtrockengewichten ($Q_{fl/t}$) der einzelnen Tiergruppen miteinander vergleicht. Die Granulomtrockengewichte der Endoxantiere lagen mit 31 % sehr viel mehr als die Granulomfrischgewichte (14 %) unter den entsprechenden mittleren Werten bei der Kontrollgruppe. Dieses unterschiedliche Verhältnis von G_{fl} (als Parameter für die exsudativ-entzündliche Komponente) zu G_t (als Maß für die proliferativ-entzündliche Komponente) wird klarer, wenn man erkennt, daß $Q_{fl/t}$ bei den Kontrolltieren sehr signifikant bis zu 39 % über dem Wert bei den Endoxantieren liegt. Das Verhältnis von Exsudation zu Proliferation wird also unter dem Einfluß von Cyclophosphamid zugunsten der Exsudation verschoben. Diese Beobachtung deckt sich mit den im ersten Teil der Arbeit (Seite 70)

getroffenen Feststellungen über das Fehlen eines dämpfenden Einflusses von Cyclophosphamid auf die exsudative Entzündung.

Erst der Nachweis, daß die Höhe der Tiergewichtszunahme innerhalb von 14 Tagen keinen signifikanten Einfluß auf die Stärke der Granulation hat, konnte die Aussagekraft eines einfachen Vergleiches zwischen den Granulomgewichten festigen. Für die Beziehungen zwischen Körpergewichtszunahme in 14 Tagen und Granulomgewicht finden sich Korrelationskoeffizienten, die es erlauben, die Hypothese eines straffen linearen Zusammenhanges zwischen beiden Größen zu verwerfen.

Ähnliches läßt sich über die Bedeutung des Tiergewichtes bei Versuchsbeginn (TAG) für die Granulomgewichte sagen. In einer einzigen Varianzanalyse konnte die Wirksamkeit der beiden unabhängigen Variablen "Tiergewicht" und "Behandlungsart" auf den Grad der entzündlichen Reaktion verglichen werden. Dabei erwies sich die Bedeutung der Behandlungsart für die Granulomgewichte als signifikant bzw. sehr signifikant. Unterschiede in Größe und Gewicht der innerhalb von 14 Tagen gewachsenen Gewebekügelchen bei den Endoxantieren und bei der Kontrollgruppe dürfen also nicht auf Unterschiede im Tieranfangsgewicht oder der Tiergewichtszunahme bezogen werden, sondern sind als Ausdruck echter antiphlogistischer Wirksamkeit des Cyclophosphamids (Endoxan) zu deuten.

Die Granulomflüssigkeitsgewichte streuen bei der Kontrollgruppe stärker als bei der endoxanbehandelten Tiergruppe.

Ein Vergleich zwischen den Streubreiten der Granulomfrischgewichte ergab für die Kontrollgruppe wesentlich (um 50 %) größere Werte als für die Endoxangruppe, während sich für die Granulomtrockengewichte ein solcher Unterschied zwischen den Tiergruppen nicht nachweisen ließ. Dieses Phänomen der geringeren Streuung der Granulomflüssigkeitswerte bei den Endoxantieren könnte folgende Erklärung haben: Es werden bestimmte, leicht hemmbare und sehr wechselhafte exsudative Vorgänge - die bei der Kontrollgruppe aufgrund ihrer starken Variabilität eine größere Streubreite bedingen - bei den Endoxantieren völlig oder nahezu völlig unterdrückt, so daß nunmehr der eigentliche Granulomfeuchtigkeitsgehalt das Ergebnis bestimmter uniformer wenig variabler und schwer bremsbarer exsudativer Grundvorgänge ist.

4.3. Gegenüberstellung eigener und fremder Ergebnisse

4.3.1. Allgemeines

Bei Durchsicht der deutschen und fremdsprachigen Literatur findet sich eine Fülle von Arbeiten, die sich mit der Wirkung von Pharmaca auf die Entzündung befassen. Dabei ist die Aussage "entzündungshemmend" stets mit Skepsis zu betrachten, da zur Prüfung dieser Frage bei fast allen Versuchen lediglich Teilphänomene (wie Gefäßpermeabilität, Exsudation, Temperatur usw.) induktiv als Parameter für die Beurteilung des Phänomenkomplexes Entzündung herangezogen wurden. In diesem Problem, den Entzündungsprozess

als Ganzes zu erfassen und zu beurteilen, steckt auch die Erklärung für die Widersprüchlichkeit der Aussagen über ein und dieselbe Substanz. So ist auch die Beurteilung der antiphlogistischen Potenzen des Stickstofflost (bzw. seines Derivates Cyclophosphamid (Endoxan)) nicht einstimmig, während seine cytostatische und cytotoxische Wirksamkeit von kaum einer Seite in Zweifel gezogen wird. Trotz der Stiefmütterlichkeit, mit der diese antientzündliche Wirkkomponente des Cyclophosphamids (Endoxan) in der Literatur behandelt wird, soll unter Hinweis auf die klinischen Erfahrungen von JIMENEZ DIAZ mit Stickstofflost (siehe S.12) ein kurzer Vergleich der wenigen experimentellen Beobachtungen anderer Autoren mit den eigenen Ergebnissen gewagt werden.

4.3.2. Akute Entzündung

In Obereinstimmung mit den eigenen Ergebnissen spricht CALNAN (25) dem Cyclophosphamid einen hemmenden Einfluß auf die akute Entzündung ab; auch MEIER und Mitarb. (82) berichten, daß Stickstofflost keine sichere Hemmwirkung auf das Eiweißoedem entfaltet. KAISER und Mitarb. (69) beobachteten sogar die Entstehung eines Oedems bei der isolierten Perfusion der Hundepfote mit Stickstofflost.

Zur Frage der Rhythmik des Entzündungsablaufes sei gesagt, daß sich nur wenige Autoren einer Meßmethode bedienten, die neben der qualitativen Beurteilung des Entzündungsvorganges auch eine Registrierung seines zeitlichen Verlaufes erlaubte. Die dabei möglicherweise beobachteten Schwankungen in der Entzündungsstärke mußten

dabei als Ausdruck der Meßfehlerstreuung imponieren und konnten als solche auch nicht ausgeschlossen werden. Der Meßfehler, der im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen zur akuten Entzündung verwendeten elektro-plethysmographischen Methode ist jedoch so gering, daß die periodischen Schwankungen der Pfortenschwellungswerte als entzündungsspezifisches Phänomen von der Meßfehlerstreuung abgegrenzt werden konnten. Die Beobachtung einer Doppelpipfeligkeit (Frühphase und Spätphase) der akuten Entzündung durch einige Autoren (32) läßt sich zu einer Hypothese der Mehrgipfeligkeit der akuten Entzündung erweitern.

4.3.3. Chronische Entzündung

In Methode und Ergebnis kommen die Untersuchungen von HOPPE (154) den eigenen Untersuchungen über den Einfluß von Cyclophosphamid (Endoxan) auf die chronisch-proliferative Entzündung wohl am nächsten. HOPPE bestimmt das Gewicht des Granuloms, das sich durch einen Kunststoffring hindurch im Bereich einer Hautexzision bei der Ratte entwickelt; dabei beobachtet er eine Verminderung des Granulationsgewichtes unter dem Einfluß von Cyclophosphamid (Endoxan). Ebenso schreiben MEIER und Mitarb. (82) dem lokal applizierten Stickstofflost deutliche granulationshemmende Fähigkeiten zu. Im gleichen Sinne äußert sich HARDESTY (55) wenn er in seiner Arbeit auf die dosisabhängige Verzögerung der Wundheilung durch Stickstofflost auf dem Wege einer Dämpfung der Fibroblastenproliferation hinweist. Angesichts der Mehrzahl

der Autoren (55/1/108/82), die sich in Übereinstimmung mit den eigenen Ergebnissen für eine antiphlogistische Wirksamkeit des Stickstofflost aussprechen, bleibt der Veröffentlichung von CALNAN und Mitarb. (25) nur wenig Überzeugungskraft: diese Autoren kommen bei der Untersuchung des Einflusses verschiedener cytostatischer Substanzen zu dem Schluß, daß Stickstofflost im Gegensatz zu Methotrexat und 5-Fluoruracil keinen sicher hemmenden Einfluß auf die Wundheilung ausübt. Außerdem darf gesagt werden, daß die sehr hohe Signifikanz (Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 1 % bei den Granulomtrockengewichten) bzw. hohe Signifikanz (Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 2 % bei den Granulomfeuchtgewichten) der Granulommittelwertsunterschiede zwischen Kontroll- und Versuchsgruppe - die bei den eigenen Versuchen trotz kleiner Stichproben erzielt werden konnte - jedem Zweifel an der antiphlogistischen Wirksamkeit des Cyclophosphamid (Endoxan) die Grundlage entzieht.

Ähnlich wie beim Stickstofflost und Cyclophosphamid (Endoxan) haben sich auch bei anderen Cytostatica entzündungshemmende Effekte nachweisen lassen: so berichten LENFELD und Mitarb. sowie MASSHOFF und Mitarb. (81) über Verzögerung und Verminderung der gesamten entzündlichen Reaktion durch den Mitoseblocker Urethan, CALNAN und Mitarb. (25) über eine signifikante dosisabhängige Bremsung der Wundheilung durch Methotrexat und 5-Fluoruracil. Die beobachtete antientzündliche Wirkung wird dabei von den meisten Autoren nicht als Ausdruck einer einfachen cytotoxischen Zellwachstumshemmung sondern mehr als Manifestation einer spezifischen antiphlogistischen Wirkkomponente des Stickstofflost gesehen.

4.4. Zur Frage des antiphlogistischen Wirkungsmechanismus von Pharmaca

4.4.1. Allgemeines

Es hat sich gezeigt, daß die entzündliche Reaktion des Gewebes in ihrer Stärke durch eine Vielzahl von Pharmaca beeinflußt werden kann, auf die im Kapitel 1 der vorliegenden Arbeit näher eingegangen wurde. In Analogie zu den Begriffen Allergie, Hypergie usw. schlägt HEILMEYER (57) die Begriffe Allophlogistie, Hypophlogistie usw. zur Kennzeichnung einer veränderten Entzündungslage vor.

Ebenso wie die Entzündungsvorgänge nicht nur im Hinblick auf die Funktionstüchtigkeit der Nebennierenrinde erklärt werden können, sondern daneben eine Reihe weiterer Faktoren für die quantitativen und qualitativen entzündlichen Veränderungen von großer Bedeutung sind (82), so entfalten auch die meisten antiphlogistischen Substanzen ihre entzündungshemmende Wirkung nicht nur auf dem Umweg über die Nebennierenrinde bzw. das Nebennierenrindenhypophysensystem (82). Zwar lassen die vermehrte Ascorbin-Cholesterin- und Corticoid-Ausscheidung im Urin nach Gabe antiphlogistischer Substanzen (33) die Bedeutung der adrenergen Komponente im Rahmen der Entzündungshemmung erkennen, doch spricht das Zustandekommen des entzündungshemmenden Effektes mancher Substanzen bei adrenaletomierten Tieren für das Vorhandensein weiterer Wirkungsmechanismen. Grob schematisierend läßt sich folgende Einteilung treffen (82):

1. Indirekte unspezifische ("Stress"-) Reaktion die zur Mehrproduktion von Nebennierenrindenhormonen (insbesondere von 11-Oxycorticoiden) führt.

2. Direkte Wirkung auf das Entzündungsgeschehen im Sinne einer toxischen Schädigung bestimmter an der Entzündung beteiligter Gewebe (z.B. des lymphatischen Systems) oder im Sinne einer direkten Beeinflussung der Gewebszellen des Entzündungsherdes. Bei der vielgestaltigen Kompliziertheit des Entzündungsablaufes überrascht es nicht, wenn verschiedene Substanzen auf verschiedene Phasen und Einzelercheinungen des Prozesses ihre hemmende Wirkung ausüben. Auf dem Mailänder Symposion über (nicht-steroidale) Antiphlogistica (64) wurden mehrere Möglichkeiten der Entzündungsbeeinflussung aufgezeigt: Permeabilitätsverminderung der Kapillaren oder Venolen durch einen Histaminantagonismus oder durch Hemmung enzymatischer Prozesse; Wirkung auf das Bindegewebe; Bremsung der zelligen Infiltration; Dämpfung der im entzündlichen Areal gesteigerten Glycolyse und des Mastzellzerfalls und der damit verbundenen Histaminliberation durch die Glucose (zit. nach 32).

4.4.2. Verschiedene Pharmaca

Wie TRNAVSKY (zit. nach 32) und MEIER (82) berichten, beeinflussen steroidale Antiphlogistica die Hyaluronidasewirkung, die Gefäß- und Zell- (39) Permeabilität sowie die gesamte proliferative Zellreaktion, wobei nach Ansicht BECKERS (14) die granulozytäre Reaktion in stärkerem Maße gebremst wird als die mesenchymale.

Bei Butazolidin nimmt WIRTH (zit. nach 32) eine dem Hydrocortison ähnliche stoffwechselverlangsamende Wirkung

im Entzündungsgebiet an. GROS (49) berichtet über die Glycolysehemmung und die verminderte Freisetzung von prophlogistischen Substanzen durch Butazolidin.

Der antiphlogistische Wirkungsmechanismus bei Compound 48/80 (116) scheint in einer Art Erschöpfung der Trägerzellen prophlogistischer Substanzen (Mastzellen) zu bestehen, erkennbar an der fortschreitenden Mastzelldegranulierung unter dem Einfluß von Compound 48/80.

Die verwirrende Vielfalt der bei den verschiedenen Antiphlogistica vermuteten Wirkungsmechanismen entspricht der Vielgestaltigkeit des Entzündungsprozesses und der mit ihm verknüpften Allgemeinreaktion (Leukozytose, Nebennierenrinden-Stimulation).

4.4.3. Cytostatica

Nach SALYAMON (102) vermindern kleine Dosen karzinogener Substanzen die Gewebsreaktivität und entfalten auf diese Art und Weise eine Entzündungshemmung, während ihre eigentliche zytostatische, gewebsschädigende Wirkung noch unterschwellig bleibt. Jedoch ist bisher weder über die zytologische noch über die biochemische Natur der "subaktiven" Entzündung unter dem Einfluß kanzerogener Stoffe näheres bekannt (102).

Während 6-Mercaptopurin nach den Angaben von SCHWARTZ (109), LA PLANTE (74), CONDIE (27) und PAGE (93) - vermutlich im Sinne eines Nucleinsäurestoffwechsel-Antimetata-

boliten (74) - vorwiegend die immunologischen Reaktionen bremst, entfaltet Methotrexat (= Amechopterin) seine entzündungshemmende Wirkung auf dem Wege einer allgemeinen Zellschädigung, erkennbar an der Abnahme des Körpergewichtes (25).

Unter der Behandlung mit Urethan beobachteten MASSHOFF und Mitarb. (81) eine charakteristische Abwandlung des Entzündungsprozesses, die im wesentlichen in einer Verzögerung und Abschwächung der gesamten entzündlichen Reaktion besteht, wobei besonders die zellige proliferative Entzündungskomponente betroffen ist. Dieser antiproliferative Effekt des Urethans ist nach Ansicht der Autoren keineswegs als Ausdruck der zytostatischen mitosehemmenden Eigenschaften, sondern vielmehr als Manifestation einer spezifischen antiinflammatorischen Wirkungskomponente zu werten. Auch Colchicin beeinflusst die Entzündung im Sinne eines Antagonisten; dabei gewinnen neben der von MEIER (82), FORMAN (42) und MUGLER (89) beobachteten lympholytischen Wirkung auch die kapillarabdichtenden und ACTH-artigen Eigenschaften (89) des Colchicins einige Bedeutung. Über die antientzündliche Wirkung der Röntgenstrahlen liegen nach Ansicht SCHERERS (104) eine Vielzahl klinischer Beobachtungen vor, doch fehlen noch begründete Vorstellungen über den Wirkungsmechanismus; eine ungefähre Richtung weisen die experimentellen Ergebnisse VÁRTÉRÉSZ (130), die eine Störung der RNS-Synthese durch die Röntgenbestrahlung als wahrscheinlich erscheinen lassen.

In der Literatur sind recht abweichende Theorien über den möglichen Wirkungsmechanismus des Stickstofflost auf die Entzündung veröffentlicht. Man muß wohl annehmen, daß es nicht nur den einen oder den anderen Weg der Einflußnahme gibt, sondern daß mehrere verschiedene Wirkungsmechanismen synchron das Bild der Entzündung variieren. Hier sind ACTH-ähnliche, antimitotische, lympholytische, fibroblastenproliferationshemmende, kapillarresistenzsteigernde, antiallergische Wirkungen zu nennen. Grob schematisierend kann man auch beim Stickstofflost genauso wie bei den übrigen antientzündlichen Substanzen zwei grundsätzliche Möglichkeiten der Einflußnahme in Betracht ziehen:

- 1) indirekte über die Nebennierenrinde bzw. das Nebennieren-Hypophysensystem;
- 2) direkter Angriff am Ort der Entzündung.

Daneben gibt es Stimmen, die den Rückgang der entzündlichen Reaktion im Rahmen einer allgemein-körperlichen Reduktion erklären und eine direkte oder indirekte spezifische antiphlogistische Potenz des Stickstofflost wenn nicht annullieren, so doch zumindest sehr in Frage stellen (25/40).

Die Einflußnahme des Stickstofflost auf die Entzündung geschieht besonders bei der parenteralen Verabfolgung indirekt über die Nebennierenrinde (38/101/41/126/12/133/113). ROMERO und GANDARIAS (101) fanden eine Parallele zwischen Effektivität der Stickstofflostbehandlung und der Höhe des ACTH-Spiegels im Blut bzw. dessen Ausscheidungsprodukten im Urin (zit. nach 38/101/19/41). Diese Beobachtungen müssen nicht als Beweis für den indirekten

Wirkungsmechanismus des Stickstofflost gelten, sondern können auch Ausdruck einer unspezifischen "Stress"-Reaktion im Sinne SELYES sein (113). Vermutlich ist es so wie BRAUNSTEINER und Mitarb. (19) annehmen, daß Stickstofflost bei der akuten Entzündung mehr im Sinne einer ACTH-Ausschwemmung wirkt, während bei der chronischen Entzündung seine lympholytische und proliferationshemmende Wirkung im Vordergrund steht. Für diese Annahme sprechen die Ergebnisse von Vergleichsuntersuchungen an adrenaletomierten und intakten Tieren (19). Daß eine enge Beziehung zwischen Stickstofflost und ACTH besteht, darüber sind sich die meisten Autoren einig (12/67/113). Beide Substanzen bewirken eine Hyperplasie der Nebennierenrinde, eine Erhöhung des Steroidspiegels im Blut mit dem damit verbundenen Anstieg der 17-Ketosteroide im Urin, ein Absinken des Ascorbin-, Cholesterol- und Lipid-Gehaltes der Nebennierenrinde sowie ein Absinken der Eosinophilen im Blut. Beide Substanzen zeigen einen deutlich lympholytischen und Hautmitosehemmenden Effekt (67).

Der beschriebene indirekte Wirkungsmechanismus über die Nebennierenrinde - mag er nur Ausdruck einer scheinbaren ACTH-Wirksamkeit des Stickstofflost im Sinne einer Stress-Reaktion oder Ausdruck einer echten ACTH-ähnlichen Effektivität des Stickstofflost sein - spielt bei der Entzündungshemmung durch Cyclophosphamid (Endoxan) zwar eine zentrale Rolle, scheint aber nicht der einzige antiphlogistische Wirkungsmodus zu sein. Neben diesem indirekten Weg der Einflußnahme auf die Entzündung über das Nebennieren-Hypophysensystem existiert ein zweiter direkter, unmittelbar am entzündlich veränderten Gewebe angreifen-

der Weg. Im Gegensatz zu FLEISCHHACKER und Mitarb. (41), die diesen direkten Wirkungsmechanismus für unwahrscheinlich halten, ziehen doch die meisten Autoren eine solche Möglichkeit näher in Betracht (97/46/19/41/126/69/55/40). Dabei denken GILMAN und Mitarb. (46/ zit. n. 126) an eine Freisetzung zellulärer Enzyme, während HARDESTY (55) KAISER (69), BRAUNSTEINER (19) und FLEISCHHACKER (41) die Hemmung der Fibroblastenproliferation als die Hauptursache des direkten antiphlogistischen Effektes des Stickstofflost ansehen.

Abschließend darf wohl gesagt werden, daß Cyclophosphamid (Endoxan) neben der zytostatischen und möglicherweise auch antiallergischen (31/108) auch eine antientzündliche Wirkungskomponente besitzt, die nicht nur auf dem Umweg über die Nebennierenrinde, sondern auch im direkten Angriff am Gewebe ihre Wirkung entfaltet.

5. AUSBLICK

Der Einsatz von Stickstofflost-Derivaten (Cyclophosphamid = Endoxan) und anderen Antikrebsdrogen als Antiphlogistica in der Klinik ist bisher nur mit einer wohl angebrachten Zurückhaltung geübt worden. Die dabei gemachten Beobachtungen (siehe Seite 12) in Verbindung mit den eigenen, in dieser Arbeit dargelegten Ergebnissen können zwar die Vorrangstellung der Corticosteroide, des Butazolidins und der Salizylsäure nicht pauschal in allen Fällen brechen, geben jedoch zu der Empfehlung Anlaß, in einigen Steroid-therapieresistenten Fällen unter strenger Indikationsstellung den Einsatz des Cyclophosphamids (Endoxan) bei der Behandlung von entzündlichen bzw. allergisch-entzündlichen Erkrankungen zu erwägen (siehe Seite 12).

Unter den vorgeschlagenen Möglichkeiten des therapeutischen Vorgehens (10) muß aufgrund der eigenen Ergebnisse der 2 - 3-tägigen Intervallbehandlung (10 - 15 mg/kg Körpergewicht intravenös) gegenüber einer alle 10 - 20 Tage durchgeführten Stoßbehandlung der Vorzug gegeben werden. Zur Unterdrückung auftretender Granulo- bzw. Thrombopenien sowie weiterer Nebenwirkungen der Endoxanbehandlung empfehlen BRAUNSTEINER und Mitarb. die gleichzeitige Gabe von ACTH während FLEISCHHACKER (41) und KLIMA (72) durch hochdosierte Gabe von Vit. C und Pyridoxin eine bessere Verträglichkeit des Stickstofflost erzielen konnten.

6. ZUSAMMENFASSUNG

Das Ziel der Arbeit war die Bearbeitung der Fragestellung, ob das Zytostaticum Cyclophosphamid (Endoxan) einen Einfluß auf den Ablauf der akut-entzündlichen und der chronisch-proliferativen Entzündung ausübt. Zunächst wird auf allgemeine Gesichtspunkte der Entzündung eingegangen.

Unter dem Hinweis, daß es sich bei der Entzündung ebenso wie bei vielen anderen biologischen Vorgängen um ein sehr komplexes und problemreiches Phänomen handelt, wird eine kurze Definition der Entzündung gegeben. Im Bewußtsein der Unzulänglichkeit einer solchen Definition wird sie beschrieben als die vitale lokale Reaktion eines Mikrokreislaufes und der dazu gehörigen Gewebe auf einen Reiz. Dabei muß man der Dynamik des ständig in Fluß befindlichen Vorganges gerecht werden, indem man stets nur von einer überwiegend alternativen, exsudativen, proliferativen und generativen Phase der Entzündung spricht.

Bei der Beschreibung der akut-entzündlichen Reaktion werden die exsudativen Vorgänge von der Zellemigration getrennt.

Der Frühphase der akuten exsudativen Veränderungen wird eine Spätphase der exsudativen Vorgänge gegenübergestellt. Die Dadurch beobachtete Doppelgipfeligkeit akut entzündlicher exsudativer Vorgänge ist Ausdruck dafür, daß es mehrere Substanzen sind, die als chemische Mediatoren der Entzündung die Unterschiede im geweblichen Verhalten bedingen.

Ein zweites Grundphänomen der akuten Entzündung ist die Zellemigration. Dabei kommt es zum Auftreten von Leukocyten, Lymphocyten und Monocyten im Entzündungsfeld.

Gelingt es dem Organismus nicht, durch akut-entzündliche Vorgänge die phlogistische Noxe (z.B. Fremdkörper) zu eliminieren, so tritt allmählich die exsudative Phase zugunsten proliferativer Gewebsneubildung in den Hintergrund; es manifestiert sich das Bild der chronischen Entzündung, deren Endprodukt ein den Fremdkörper einschließendes Granulom ist. Trotz ihrer Bedeutung für die Elimination schädlicher Reize im Organismus ist die Entzündung nicht immer ein zweckmäßiger Vorgang. Aseptische Eiterungen, postoperative Schwellungen, Fremdkörperreaktionen bei alloplastischen Transplantationen und Arthritiden, chronische Entzündungen verschiedener Organe (Adnexitis, Parametritis, rheumatische Entzündungen, Sinusitis) sind einige Beispiele für das Aufgabengebiet antientzündlicher Maßnahmen und Pharmaca, die im Anschluß an einen kurzen historischen Rückblick wie folgt eingeteilt werden:

1. steroidale Antiphlogistica
2. nicht steroidale Antiphlogistica
3. cytostatische Antiphlogistica.

Stickstofflost und andere cytostatische Substanzen, über deren Bedeutung für die Klinik vor allem JIMENEZ DIAZ u. Mitarb. berichtet haben.

Bekannt wurde Stickstofflost als Kampfmittel im Krieg 1914 - 1918; chemisch handelt es sich dabei um ein Deri-

vat des Mustagen. Im Endoxan (Cyclophosphamid) konnten die therapeutischen Eigenschaften der äußerst toxischen Substanz verbessert werden. Die Umwandlung der in vitro inaktiven Transportform in die aktive Wirkform erfolgt zum überwiegenden Teil in den Lebermikrosomen.

Die eigenen Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit der akuten Entzündung durch Cyclophosphamid (Endoxan) wurden an 150 - 200 g schweren Meerschweinchen durchgeführt. Dabei diente die mit Hilfe einer im Text näher beschriebenen elektroplethysmographischen Meßvorrichtung ermittelte Volumdifferenz zwischen der infolge subplantarer Formalininjektion entzündlich geschwellenen und der unbehandelten Hinterpfote desselben Tieres als Parameter für den Grad der entzündlichen Veränderung.

18 Versuchstiere erhielten 100 mg/kg Körpergewicht des auf seine antientzündliche Wirksamkeit zu prüfenden Stickstofflostderivates Cyclophosphamid (Endoxan) intrakardial; der Kontrollgruppe von 19 Tieren wurde eine entsprechende Menge physiologischer Kochsalzlösung appliziert.

Im Rahmen der Untersuchungen zur chronischen Entzündung wurde bei 21 Tieren am Modell des Fremdkörpergranuloms makroskopisch (Granulomgewicht) und mikroskopisch der Einfluß des als Stoß bzw. fraktioniert applizierten Cyclophosphamids (100 mg/kg Körpergewicht Endoxan intrakardial) beurteilt; gleichzeitig wurden Körpergewicht und Leukocytenzahl im Blut kontrolliert.

Bei der statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse wurden Streuung und Mittelwerte der Meßzahlen errechnet. Nach Bestätigung der Populationshomogenität durch den F-Test konnte die Signifikanz der Mittelwertsunterschiede im t-Test und die Korrelation zwischen Tiergewicht und entzündlicher Reaktionsstärke geprüft werden. Zur zahlenmäßigen Erfassung einer Periodizität im akuten Entzündungsablauf mußte die Regressionskurve der Schwellungsverläufe ermittelt werden. Abschließend wird mittels einer Varianzanalyse der Einfluß der beiden unabhängigen Variablen "Tiergewicht und Behandlungsart" auf das Ausmaß der chronisch-entzündlichen Reaktion untersucht.

Die Überprüfung des Einflusses von Endoxan auf die akute Entzündung ergab folgendes:

- 1) Cyclophosphamid bewirkt in therapeutischen Dosen keine Beeinflussung der akut-entzündlichen Reaktion.
- 2) Zwischen Tiergewicht und Schwellungsmaximum als Parameter der Entzündung besteht eine ganz schwache Korrelation.
- 3) Die Pfortenschwellungskurven zeigen keinen gleichmäßigen kontinuierlichen Anstieg, sondern führen Schwankungen um eine Regressionskurve aus, die als spezifisch entzündliches Phänomen Ausdruck einer rhythmischen Schwellungszunahme sind.

Bezüglich des Einflusses von Endoxan auf die chronisch-proliferative Entzündung wurde folgendes deutlich:

- 1) Cyclophosphamid hemmt die chronische Entzündung signifikant.
- 2) Ein signifikanter Einfluß der gewählten Cyclophosphamiddosis auf das Körpergewicht der Tiere ist dabei nicht feststellbar; ein indirekt antientzündlicher Wirkungsmechanismus auf dem Umweg allgemeinkörperlicher Reduktion darf somit ausgeschlossen werden.
- 3) Die fraktionierte Verabfolgung von Cyclophosphamid in kleineren Dosen entfaltet einen stärkeren anti-entzündlichen Effekt als die einmalige Stoßapplikation.
- 4) Die Proliferation wird in stärkerem Maße gehemmt als die exsudative Phase der Entzündung.
- 5) Eine Korrelation zwischen Tieranfangsgewicht bzw. Tiergewichtszunahme innerhalb von 14 Tagen und Stärke der chronisch-entzündlichen Reaktion besteht nicht.
- 6) Die Granulationsflüssigkeitsgewichte streuen bei der Kontrollgruppe stärker als bei der mit Cyclophosphamid behandelten Tiergruppe.

In der Diskussion der Methodik zur Erzeugung einer akuten Entzündung wird eine Vielzahl von in der Literatur angegebenen Modellen beschrieben, von denen hier nur das klassische Selyesche Eiweißödem und das Formalinödem erwähnt seien.

Da es wenig sachlich erscheinen muß, die Eignung einer Testmethode an der Häufigkeit zu messen, mit der sie in der Literatur beschrieben wird, wurde die Brauchbarkeit einiger Modelle in Vorversuchen erprobt. Dabei erwies sich das Formalinödem der Meerschweinchen-Hinterpfote am brauchbarsten für die eigenen Versuche. Es demonstriert die Vorgänge bei der akuten Entzündung vollständiger als die meisten anderen Methoden. Nach subplanter Injektion von 0,05 ml Formalin kam es bereits nach 5 - 10 Minuten zu einer deutlichen Pfortenschwellung, die innerhalb der ersten 8 - 12 Stunden ein Maximum von etwa 252 mm³ erreichte.

Um die Wirksamkeit von Pharmaca auf die chronische Entzündung zu testen, werden von den meisten Autoren Methoden angegeben, die auf der Bildung eines Granuloms beruhen.

Aus dem geradezu unerschöpflichen Sortiment bekanntgewordener und im Text teilweise kurz beschriebener vielfältig modifizierbarer Methoden erschien die Implantation eines Polyäthylenschwämmchens unter die Rückenhaut des Meerschweinchens wegen der einfachen technischen Durchführbarkeit und Standardisierbarkeit für die eigenen Versuche besonders geeignet.

Die strenge gegenseitige Abhängigkeit der verschiedenen Entzündungscharakteristica macht die Isolierung einer Komponente als Entzündungsparameter schwer. HILLEBRECHT fordert von einer zur Erfassung akut entzündlicher Ver-

änderungen geeigneten Methode, daß quantitative Messungen in kurzen zeitlichen Abständen vorgenommen werden können.

Neben histologischen Entzündungsparametern werden makroskopisch faßbare Veränderungen zur Beurteilung entzündlicher Reaktionen herangezogen. Dabei hat sich besonders die Erfassung des Pfotenvolumens als brauchbar erwiesen.

Bei den eigenen Versuchen wurde der plethysmographischen Methode gegenüber den verschiedenen gravimetrischen, photogrammetrischen, Umfangs- und Schublehrmessungen des Pfotenödems der Vorzug gegeben. Mit Hilfe einer eigenen Meßvorrichtung, deren Aufbau im Text näher beschrieben wird, konnte wie mit keinem anderen in der Literatur beschriebenen System den Forderungen HILLEBRECHTS an die Eignung eines Meßsystems Genüge geleistet werden: in einem einfachen Meßvorgang konnten in direkter Ableistung unter minimalem zeitlichem Aufwand Entzündungsmaß und Entzündungsverlauf registriert werden: die Meßfehlerstreuung war dabei im Vergleich zur biologischen Streuung unbedeutend.

In Anlehnung an eine in der Literatur häufig angegebene Methode erfolgte bei den eigenen Versuchen die quantitativ-objektive Beurteilung der chronisch-entzündlichen Reaktion durch Bestimmung der Granulomtrocken- und -frischgewichte und weiterer daraus errechneter Größen. Die histologische Untersuchung der Granulome bot eine weitere Möglichkeit, das Ausmaß der entzündlichen Veränderungen zu erfassen.

Dosislimitierender Faktor ist bei jeder therapeutischen Maßnahme das Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen und Intoleranzerscheinungen, die von PHILIPS und Mitarb. unter dem Begriff des "verzögerten Letalitätssyndroms" zusammengefaßt werden.

Bei sehr hohen Dosen von Cyclophosphamid (LD_{50}), wie sie von manchen Autoren angegeben werden, kann eine Verschleierung und Überlagerung einzelner substanzspezifischer Wirkungskomponenten (antientzündlich, antiallergisch) durch eingreifende, allgemein-reduzierende Reaktionen nicht ausgeschlossen werden. Bei den eigenen Versuchen wurde daher die Dosis entsprechend niedrig gehalten. Über die Applikationsart weichen die Ansichten der Autoren sehr auseinander. Hält man sich das beim Cyclophosphamid verwirklichte Transportform-Wirkform-Prinzip (in vitro inaktiv, aktiviert in vivo in den Lebermikrosomen) vor Augen, so kann allein die intravasale Applikationsform sinnvoll erscheinen.

Zu Beginn der Diskussion der Ergebnisse wird auf die hohe bzw. sehr hohe Signifikanz hingewiesen, mit der die nachstehenden Angaben gemacht werden. Es zeigte sich, daß Cyclophosphamid (Endoxan) in einer nebenwirkungsfreien Dosis die akute exsudative Phase der Entzündung in Grad und Ablauf unbeeinflußt läßt, während die proliferativen Vorgänge der chronischen Entzündung signifikant gehemmt werden; dabei scheint die fraktionierte Applikationsform effektvoller zu sein als die Stoßbehandlung.

In diesem Sinne äußern sich auch die meisten Autoren, wobei die Angaben in der Literatur zum Teil auch die antiphlogistischen Wirkungskomponenten anderer cytostatischer Substanzen (Urethan, 5-Fluor-Uracil, Methotrexat) betreffen.

Bei den Versuchen zur akuten Entzündung fiel eine eigentümliche Rhythmik der Pfortenschwellungszunahme auf, deren Schwankungsbereich nicht Ausdruck einer Meßfehlerstreuung sein konnte, sondern als entzündungsspezifisches Phänomen aufzufassen war und isoliert werden konnte. Die Beobachtung einer Doppelgipfeligkeit (Frühphase und Spätphase) der akuten Entzündung durch einige Autoren läßt sich zu einer Hypothese der Mehrgipfeligkeit der akuten Entzündung erweitern.

Was den Wirkungsmechanismus des Stickstofflost auf die Entzündung betrifft, so muß man wohl annehmen, daß es nicht nur den einen oder den anderen Weg der Einflußnahme gibt, sondern daß mehrere verschiedene Wirkungsmechanismen synchron das Bild der Entzündung variieren: ACTH-ähnliche, antimitotische, lympholytische, fibroblastenproliferationshemmende, kapillarresistenzsteigernde, antiallergische. Grob schematisierend kann man auch beim Stickstofflost genauso wie bei den übrigen antientzündlichen Substanzen zwei grundsätzliche Möglichkeiten der Einflußnahme in Betracht ziehen: erstens: indirekt über die Nebenniere bzw. das Nebennieren-Hypophysensystem und zweitens: direkter Angriff im Gewebe.

Daneben gibt es Stimmen, die den Rückgang der entzündlichen Reaktion im Rahmen einer allgemein-körperlichen

Reduktion erklären und eine direkte oder indirekte spezifisch-antiphlogistische Potenz des Stickstofflost wenn nicht annullieren, so doch zumindest sehr in Frage stellen. Daß ein solcher Zusammenhang zwischen Reduktion des körperlichen Allgemeinbefindens und Entzündungshemmung bei den eigenen Versuchen nicht vorliegt, konnte anhand geeigneter Untersuchungen und Berechnungen dargelegt werden.

Die der Arbeit zugrunde liegende Fragestellung, ob Endoxan das Geschehen der akuten bzw. der chronischen Entzündung beeinflußt, kann damit wie folgt beantwortet werden: Bei der akuten Entzündung war eine sichere antiphlogistische Wirkung nicht nachweisbar, während eine Beeinflussung der chronischproliferativen Entzündung statistisch gesichert werden konnte.

LEGENDE

zu den Tabellen und Abbildungen

- Abb. 1 u. 2 Schematische und photographische Darstellung der elektrisch-plethysmographischen Meßvorrichtung
- Tab. 1 Maßzahlen zu den Untersuchungen über die akute Entzündung
- Zeile a u. b: Volumen der beiden Hinterpfoten in mm
- Zeile c : Differenz zwischen a u. b unter Berücksichtigung der vorstehenden Anfangsdifferenz
- Zeile d : Zeile c in % des Maximalwertes
- t : Zeit in Stunden nach Versuchsbeginn
- Abb. 3 Diagramm sämtlicher Pfortenschwellungen
- Tab. 2 Zeitpunkt der Schwellungsmaxima bei den einzelnen Tiergruppen
- Tab. 3 Mittelwerte der Schwellungsmaxima und der Tiergewichte
- Tab. 4 Dispersion der Schwellungsmaxima ($S_{\max}$); V = Variabilitätskoeffizient = $\frac{S_{\max}}{\bar{S}}$ in % des Mittelwertes
- Tab. 5 Vereinheitlichung des zeitlichen Schwellungsverlaufes unter Zugrundelegung einer gemeinsamen Schwellungsmaximumszeit $t_{S_{\max}} = 9,3$ Stunden; dabei wird $t_i = (t_S : t_{S_{\max}}) \cdot \bar{t}_{S_{\max}}$
- Tab. 6 Pfortenschwellungen (in % der $S_{\max}$) nach Vereinheitlichung des zeitlichen Schwellungsverlaufes. t_i = Zeit in Stunden nach Versuchsbeginn
- Abb. 4 Mittlere Pfortenschwellungen S in Abhängigkeit von der Zeit und zugehörige Regressionskurve
- Tab. 7 Die Forderung: $S - S_f(t) = 0$ wird erfüllt von der Kurve:
- $$S_f(t) = 30,3 \sqrt[2]{t_i} + 3,61 \sqrt[3]{t_i}$$

- Abb. 5 Gesamtstreuung (weit schraffiert) und Meßfehlerstreuung (eng schraffiert) der Pfortenschwellungswerte um die Regressionskurve
- Tab. 8 Zur Abb. 5 gehörige Meßzahltablelle
- Tab. 9 Maßzahltablelle der bei den Versuchen zur chronischen Entzündung ermittelten Granulom- und Tiergewichte
- Tab.10 Mittelwerte der Granulom- und Tiergewichte
- Tab.11 Mittelwertsdifferenzen der Granulom- und Tiergewichte zwischen den Versuchsgruppen
- Abb. 6 Mittelwerte der Granulomfrischgewichte
- Abb. 7 Mittelwerte der Granulomtrockengewichte
- Abb. 8 Kumulative Häufigkeitsverteilung der Granulomfrischgewichte
- Abb. 9 Prozentuale kumulative Häufigkeitsverteilung der Granulomfrischgewichte
- Tab.12 Einfache und prozentuale kumulative Häufigkeitsverteilung der Granulomfrischgewichte
- Abb.10 Mittelwerte der Quotienten $G_{fl} : G_t$
- Abb.11 Mittlere 2-tägige Gewichtszunahme der Tiere vom 1. - 14. Tag
- Abb.12 Mittlere Gewichtszunahme der Tiere in 14 Tagen
- Tab.13 Mittlere 2-tägige Gewichtszunahme der Tiere vom 1. - 14. Tag
- Tab.14 Mittlere Gewichtszunahme der Tiere in 14 Tagen
- Tab.15 Dispersion der Granulomfrisch-, -trocken- und -flüssigkeitsgewichte sowie der Tiergewichtszunahme
- Tab.16 F-Test als Voraussetzung für den folgenden t-Test

- Tab. 17 Varianzanalyse
- Tab. 18 Signifikanz der Mittelwertsunterschiede bei den Granulomfrisch- und -trockengewichten, bei der Tiergewichtszunahme und bei dem Verhältnis von Flüssigkeitsgewicht zu Trockengewicht
- Tab. 19 Produkt-Moment-Korrelation zwischen Tiergewicht auf der einen Seite und Granulomfrisch- bzw. -trockengewicht bzw. Quotient $G_{fl} : G_t$ auf der anderen Seite
- Tab. 20 Wirkungen der beiden unabhängigen Variablen
1) Behandlungsart ($A_1 = N$; $A_2 = ES$; $A_3 = EF$)
2) Tiergewichtsklasse ($B_1 = 228 - 269$ g;
 $B_2 = 210 - 231$ g)
auf die Granulomfrisch- bzw. die Granulom-
trockengewichte (Varianzanalyse)

Tab. 1 : Maßzahlen zu den Untersuchungen über die akute Entzündung -

Tier-Nr. behandelt mit:	1 N	3 N	4 N	5 N	13 N	14 N	16 N	17 N	27 N	28 N	29 N
Tiergew. (g)	236	228	226	228	258	283	319	235	202	224	247
Zeit (h)											
0 a	885	895	878	845	895	1045	1000	1035	883	910	962
b	885	938	878	863	895	1035	1015	1035	883	910	990
c	0	+43	0	+18	0	-10	+15	0	0	0	+28
d	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
2 a	1090	1185	1015	990	1095	1035	1085	1163	895	1055	1185
b	910	975	895	795	910	1000	1000	1075	845	910	1000
c	180	253	120	213	185	25	100	88	50	145	113
d	45,0	75,0	47,0	65,0	75,1	8,8	35,6	31,0	29,4	57,5	27,3
4 a	1145	1130	1025	1025	1095	1170	1055	1245	925	1035	1162
b	895	938	863	785	895	975	950	1045	845	895	990
c	250	235	162	258	200	185	120	200	80	140	200
d	62,5	69,7	63,5	78,8	81,3	64,2	42,7	70,0	47,1	55,5	48,7
6 a	1240	1130	1085	1065	1145	1185	1135	1308	990	1110	1307
b	895	878	910	870	925	975	975	1035	845	910	990
c	345	295	175	213	220	200	175	273	145	200	345
d	86,3	87,4	68,6	65,0	89,0	69,6	62,2	95,7	85,3	79,3	84,3
8 a	1260	1145	1145	1120	1170	1275	1145	1320	1025	1105	1370
b	910	910	863	925	975	975	1035	878	877	1000	877
c	350	278	235	275	245	290	185	285	148	228	398
d	87,6	82,3	92,1	84,2	100	100	65,7	100	87,1	90,4	97,4
10 a	1245	1170	1170	1145	1130	1250	1195	1293	1025	1130	1370
b	910	910	938	863	910	950	975	1035	863	895	990
c	365	303	232	300	220	290	235	258	163	235	408
d	91,3	89,7	91,0	92,1	89,8	100	83,4	90,5	95,9	93,9	100
12 a	1295	1205	1205	1170	1095	1210	1230	1260	1015	1137	1340
b	895	910	950	863	878	935	963	1035	845	885	1000
c	400	338	255	325	217	265	282	225	170	252	368
d	100	100	100	100	88,6	91,4	100	78,9	100	100	90,2
18 a	1170	1095	1155	1095	1055	1170	1180	1120	990	1060	1237
b	925	910	925	878	878	975	950	1000	863	937	1000
c	245	228	230	235	177	185	245	120	128	123	265
d	61,3	67,5	90,2	72,3	72,2	63,8	86,9	42,1	75,3	48,8	65,0
24 a	1095	1065	1095	1035	1035	1120	1130	1075	925	1025	1205
b	925	910	935	870	910	950	963	990	845	895	990
c	170	198	160	183	125	160	182	85	80	130	243
d	42,5	58,6	62,7	56,3	51,0	55,2	64,5	29,8	47,1	51,6	59,6
48 a	1015	1035	1055	1025	990	1095	1095	1055	910	1015	1162
b	925	895	910	925	895	990	950	990	840	925	1015
c	90	183	145	118	95	95	160	65	70	90	175
d	22,5	54,1	56,9	36,3	38,8	32,8	56,7	22,8	41,2	35,7	42,9
S _{max}	400	338	255	325	245	290	282	285	170	252	408
t _{Smax}	12	12	12	12	8	8	12	8	12	12	10
T G	236	228	226	228	258	283	319	235	202	224	247

Tab. 1: Fortsetzung

30	31	38	39	42	43	44	45	7	10	11	12	15
N	N	N	N	N	N	N	N	E	E	E	E	E
217	220	227	226	213	221	206	209	182	256	237	304	265
862	925	877	910	845	877	812	877	1000	1055	935	1045	895
877	910	895	910	845	877	812	877	1000	1055	935	1045	895
+15	+15	-18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1015	975	950	1025	925	925	950	990	1045	1270	1095	1205	1035
877	925	862	910	845	877	812	877	910	1035	935	1085	760
153	65	70	115	80	48	38	113	135	235	160	120	275
51,5	25,4	43,7	79,4	50,0	65,8	12,8	55,7	64,3	76,0	46,8	66,7	100
1000	1035	990	1015	975	925	990	990	1105	1370	1110	1145	1015
845	910	870	910	862	900	812	877	935	1035	863	1035	780
170	140	102	105	113	25	178	113	170	335	247	110	235
57,3	55,2	63,7	72,5	70,6	34,3	59,8	55,7	81,0	1082	72,2	61,1	85,5
1130	1095	1045	1045	975	925	1075	1015	1095	1320	1205	1215	1035
862	910	877	900	845	895	812	885	925	1035	863	1035	760
283	200	150	145	130	30	263	130	170	285	342	180	275
95,7	79,1	93,7	100	81,2	41,2	88,3	64,1	81,0	91,1	100	100	100
1120	1120	1075	1060	1015	937	1110	1045	1095	1310	1225	1225	1045
877	895	885	930	855	895	812	877	910	1000	910	1045	795
258	240	160	130	160	42	298	168	185	310	315	180	250
87,3	95,1	100	89,7	100	57,6	100	82,8	88,1	100	92,1	100	92,1
1157	1162	1055	1055	975	950	1075	1065	1095	1275	1215	1210	1050
877	925	877	910	830	877	780	862	900	1000	925	1045	813
295	252	160	145	145	73	295	203	195	275	290	165	237
100	100	100	100	90,6	100	99,0	100	92,9	88,7	84,8	91,7	86,2
1105	1162	1015	1000	975	925	1075	1055	1098	1230	1205	1195	1055
845	925	877	895	830	870	812	877	895	1000	935	1045	830
275	252	120	105	145	55	233	178	203	230	270	150	225
93,2	100	75,0	86,3	90,6	75,3	78,2	87,7	96,7	74,2	78,9	83,3	81,8
1035	1105	985	990	950	925	975	1015	1110	1170	1085	1140	1008
845	910	862	877	812	870	795	877	900	1000	885	1040	795
205	210	105	113	138	55	180	138	210	170	200	100	213
69,5	83,3	65,6	77,9	86,3	75,3	60,4	68,0	100	54,8	58,5	55,6	77,5
1025	1045	962	975	962	910	950	1025	1110	1163	1055	1130	990
862	925	877	895	840	862	795	877	910	1000	895	1035	845
178	135	67	80	122	48	155	148	200	163	160	95	145
60,3	53,6	41,9	55,2	76,3	65,8	52,0	72,9	95,2	52,6	46,8	52,8	52,7
937	950	945	975	950	910	915	950	990	963	1015	1163	990
830	845	862	877	830	870	795	877	900	925	950	1055	878
122	120	65	98	120	40	120	73	90	38	65	108	112
41,4	47,6	40,6	67,6	75,0	54,8	40,3	36,0	42,9	12,3	19,0	60,0	40,7
295	252	160	145	160	73	298	203	210	310	342	180	275
10	10	8	6	8	10	8	10	18	8	6	6	6
217	220	227	226	213	221	206	209	182	256	237	304	265

Tab. 1: Fortsetzung

18	19	20	22	23	25	26	33	34	35	36	37	46
E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
202	273	236	226	217	257	186	208	213	213	223	206	229
878	925	935	925	895	975	760	895	845	937	885	877	925
878	925	935	925	862	975	760	845	845	937	885	877	925
0	0	0	0	-33	0	0	-50	0	0	0	0	0
0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1035	1145	1110	1055	990	1110	845	990	950	1095	1015	990	1000
795	863	925	925	937	1025	760	830	845	937	885	845	925
240	282	185	130	20	85	85	110	105	158	130	145	75
61,5	81,2	58,4	57,8	17,5	30,7	50,0	58,0	84,9	85,5	62,5	47,2	32,2
1095	1135	1130	1065	1035	1170	845	1015	975	1085	1045	1015	1055
740	910	1000	910	950	1025	760	845	830	925	877	812	877
355	225	130	145	52	145	85	120	145	160	168	203	178
91,0	64,8	41,0	64,5	45,3	52,3	50,0	63,3	67,5	86,6	80,8	66,1	76,4
1130	1210	1180	1120	1045	1292	863	1045	1000	1075	1055	1080	1075
740	863	863	937	925	1015	740	830	812	910	877	845	925
390	347	317	183	87	277	123	165	188	165	178	235	150
100	100	100	81,4	75,7	100	72,4	86,9	87,5	89,3	85,6	76,6	64,4
1135	1210	1145	1220	1055	1245	910	1070	1045	1110	1070	1085	1110
845	925	878	895	925	1000	740	830	830	925	862	845	910
290	285	267	227	97	245	170	190	215	185	208	240	200
74,7	82,1	84,2	100	84,4	88,4	100	100	100	100	100	78,2	85,8
1150	1210	1132	1120	1055	1230	878	1065	1015	1110	1065	1137	1120
845	900	910	910	915	1000	740	862	830	910	862	830	910
305	310	222	210	107	230	138	153	185	185	203	307	210
78,2	89,1	70,0	92,5	93,1	83,0	81,2	80,5	86,0	100	97,6	100	91,1
1163	1205	1120	1137	1025	1162	910	1045	975	1075	1040	1105	1110
845	878	950	910	877	975	740	845	845	910	862	845	900
318	327	170	227	115	187	170	150	130	165	178	260	210
81,5	94,2	53,6	100	100	67,5	100	78,9	60,5	89,2	85,6	84,7	91,1
1080	1075	1065	1075	990	1095	845	1045	950	1065	1015	1065	1110
730	925	845	910	895	990	740	830	830	910	877	830	877
350	150	220	165	62	105	105	165	120	153	138	235	233
89,7	43,2	69,4	72,7	53,9	37,9	61,8	86,8	55,8	83,8	66,3	76,5	100
1065	1065	1015	1035	990	1065	845	1025	925	1045	1015	1025	1075
760	910	845	925	925	1015	740	840	830	910	900	830	910
305	155	170	110	32	50	105	135	95	135	115	195	165
78,2	44,7	53,6	48,5	27,8	18,1	61,8	71,1	44,2	73,0	55,3	63,5	70,8
1000	1035	1055	1045	962	1025	770	1007	925	1045	990	955	1045
878	925	990	910	895	1000	730	855	845	925	870	845	925
122	110	65	135	32	25	40	120	80	120	120	110	120
31,2	31,7	20,5	59,5	27,8	9,0	23,5	53,7	37,2	64,9	57,7	35,8	51,5
390	347	317	227	277	170	190	215	185	208	307	115	233
6	6	6	8	6	8	8	8	8	8	10	12	18
202	273	236	226	217	257	186	208	213	213	223	206	229

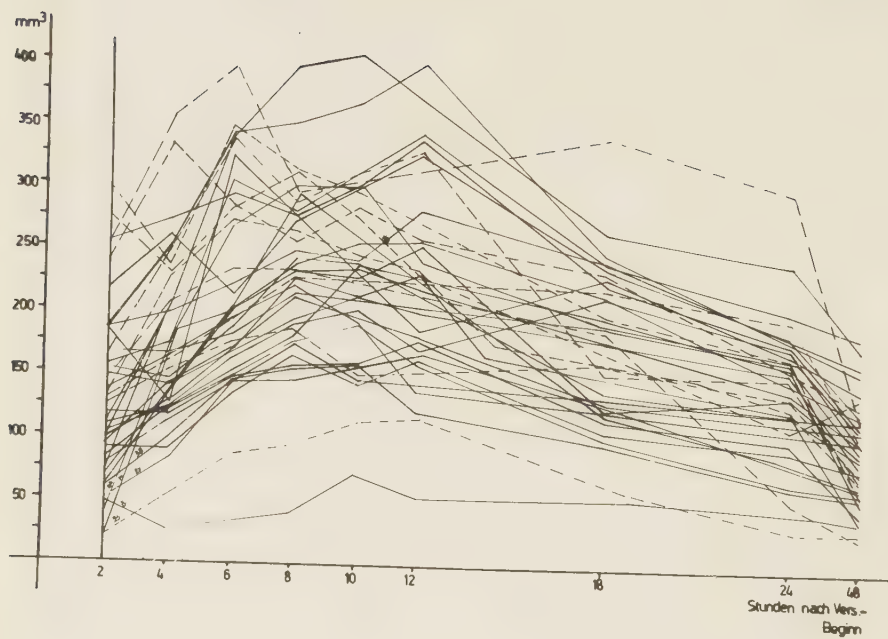


Abb. 3: Diagramm sämtlicher Ppotenschwellungen

Tab. 2: Zeitpunkt der Schwellungsmaxima bei den einzelnen Tiergruppen

Zeitpunkt der $S_{\max}$ in h	Anzahl der Tiere		
	N	E	N/E
6	1	7	8
8	6	7	13
10	5	1	6
12	7	1	8
18	0	2	2

Tab. 3: Mittelwert der Schwellungsmaxima und der Tiergewichte

Gruppe	$\mu (S_{\max})$	$\mu (TG)$
N	255 mm ³	
E	250 mm ³	
N/E	252 mm ³	231 g

Tab. 4: Dispersion der Schwellungsmaxima ($S_{\max}$) (V = Variabilitätskoeffizient = ϵ in Prozenten des Mittelwertes)

Gruppe	ϵ	ϵ^2	V
N	84,8	7197	33,3
E	71,9	5168	28,8
N/E	78,9	6222	31,3

Tab. 5: Vereinheitlichung des zeitlichen Schwellungsverlaufes unter Zugrundelegung einer gemeinsamen Schwellungsmaximum-Zeit $\bar{t}_{S_{\max}} = 9,3$ Stunden; dabei wird

$$t_i = (t_S : t_{S_{\max}}) \cdot \bar{t}_{S_{\max}}$$

t_i bei Tieren mit

t_S	$t_{S_{\max}}$ = 6 h	$t_{S_{\max}}$ = 8 h	$t_{S_{\max}}$ = 10 h	$t_{S_{\max}}$ = 12 h	$t_{S_{\max}}$ = 18 h
0	0	0	0	0	0
2	3,1	2,3	1,9	1,6	1,0
4	6,2	4,6	3,7	3,1	2,1
6	9,3	6,9	5,6	4,7	3,1
8	12,4	9,3	7,4	6,2	4,1
10	15,5	11,5	9,3	7,8	5,2
12	18,6	13,8	11,2	9,3	6,2
18	24,8	20,7	16,8	14,1	9,3
24	37,2	27,6	22,4	18,6	12,4
48	74,4	55,2	44,8	37,2	24,8

Tab. 6: Pfortenschwellungen (in Prozenten der $S_{\max}$) nach Vereinheitlichung des zeitlichen Schwellungsverlaufes.
 t_i = Zeit in Stunden nach Versuchsbeginn.

Tier Nr.	1	3	4	5	13	14	16	17	27	28	29	30	31	38	39	42	43	44	45	7
t_i	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1,0																				
1,6	45,0	75,0	42,0	65,0		35,6	29,4	57,5			27,3	51,5	25,4	43,7	79,4	50,0	65,8	12,8	55,7	64,3
1,9					75,1	8,8	31,0				48,7	57,3	55,2				34,3		55,7	81,0
2,3									85,3	79,3	84,3	95,7	79,1				41,2		64,1	92,9
3,1									87,1	90,4										
3,7																				
4,6																				
4,7	86,3	87,4	68,6	65,0		62,2														
5,6																				
6,2	87,6	82,3	92,1	84,2		65,7			87,1	90,4										
6,9																				
7,4																				
7,8																				
9,3	91,3	89,7	91,0	92,1		83,4			95,9	93,9										
11,2	100	100	100	100		100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
11,5																				
12,4																				
13,8																				
14,1	61,3	67,5	90,2	72,3		88,6	91,4		75,3	48,8										
15,5																				
16,8																				
18,0	42,5	58,6	62,7	56,3		64,5			47,1	51,6										
20,7																				
22,4																				
24,8																				
27,6																				
37,2	22,5	54,1	56,9	36,3		51,0	55,2	29,8	41,2	35,7										
44,8																				
55,2																				
74,4																				

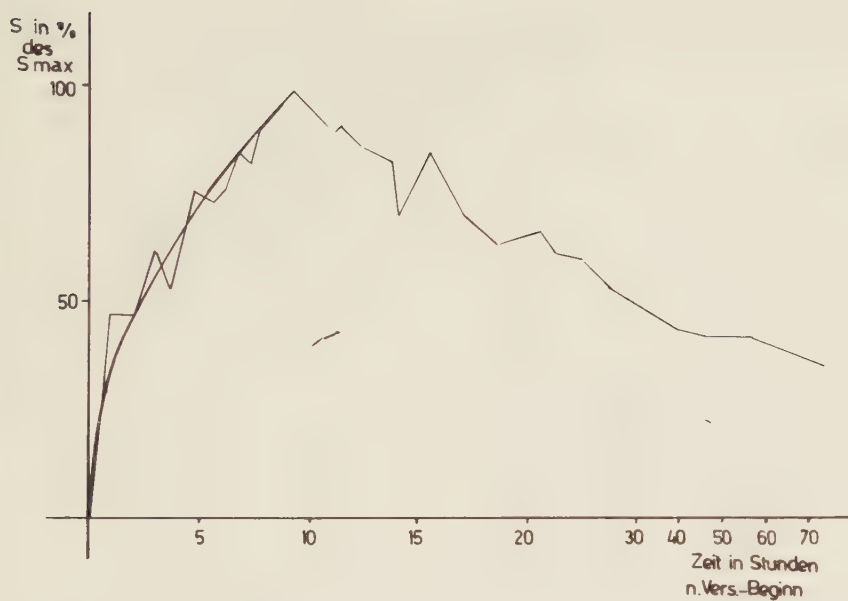


Abb. 4: Mittlere Pfortenschwellungen S in Abhängigkeit von der Zeit und zugehörige Regressionskurve.

Tab. 7 : Die Forderung: $(S - S_f(t)) = 0$
wird erfüllt von der Kurve:

$$S_f(t) = 30,3 \sqrt[2]{t_i} + 3,61 \sqrt[3]{t_i}$$

t	S	$S_f(t)$	$S - S_f(t)$
0	0	0	0
1,0	48,3	33,9	+ 14,4
1,6	46,5	42,4	+ 4,1
1,9	45,5	46,3	- 0,8
2,3	50,9	50,9	0,0
3,1	63,1	58,6	+ 4,5
3,7	52,9	63,8	- 10,9
4,6	71,6	70,8	+ 0,8
4,7	76,2	71,9	+ 4,3
5,6	73,5	78,2	- 4,7
6,2	77,9	82,0	- 4,1
6,9	85,6	86,6	- 1,0
7,4	83,1	89,4	- 6,3
7,8	91,3	91,6	- 0,3
9,3	100	100	0,0
			+ 28,1
			- 28,1
			= 0,0

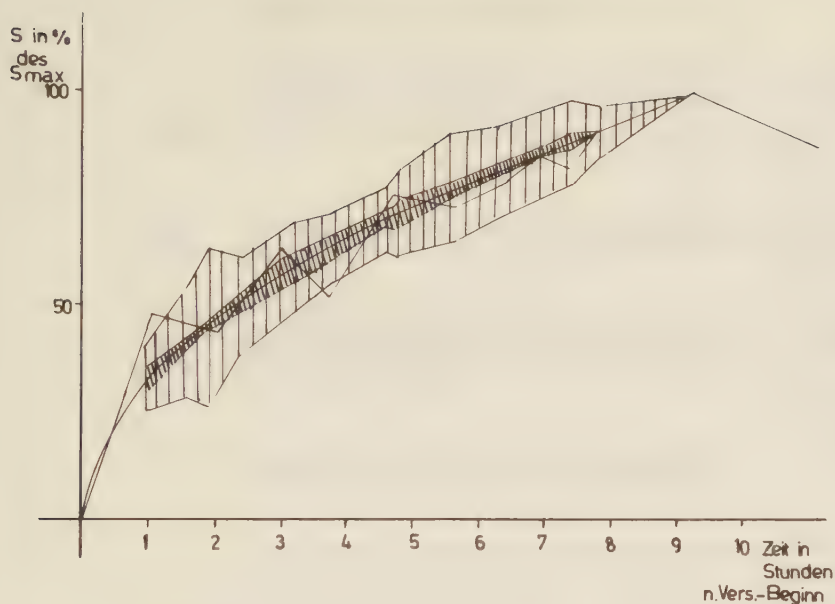


Abb. 5: Gesamtstreuung (weit schraffiert) und Messfehlerstreuung (eng schraffiert) der Pfortenschwellungswerte um die Regressionskurve.

Tab. 8: Zur Abb. 5 gehörige Maßzahltablelle

t	$\bar{S}$	$\bar{S}'$
1,0	7,8	2,4
1,6	12,7	0,9
1,9	19,0	0,4
2,3	12,0	2,1
3,1	10,8	3,2
3,7	8,0	0,0
4,6	7,3	1,4
4,7	9,0	2,8
5,6	12,3	1,3
6,2	10,6	1,4
6,9	10,0	0,7
7,4	9,7	1,5
7,8	6,9	0,0

$$\mu \pm 10,5 \pm 1,4$$

Im t-Test findet man für den Mittelwertsunterschied $\bar{S} (= \pm 10,5) - \bar{S}' (= \pm 1,4)$ den Wert für $t = 10,706$, der bei weniger als 1 % signifikant ist.

Tab. 9: Maßzahltablelle der bei den Versuchen zur chronischen Entzündung ermittelten Granulom- und Tiergewichte.

Tier Nr.	Granulom-frisch-gewicht ₁	Granulom-frisch-gewicht ₂	mittleres G _{fr}	Granulom-trocken-gew. G _t	Granulom-flüssigkeitsgew. G _{fl} =G _{fr} -G _t	Quotient $Q_{fl/t} = \frac{G_{fl}}{G_t}$	Tier-anfangsgew. TAG	Tier-end-gew. TAG	Tier-gew. Zunahme in 14 Tg. TGZ	TGZ in % des TAG
62	411,6	295,2	363,4	68,2	295,2	4,33	220	346	126	57,4
64	323,8	303,5	313,7	49,3	264,4	5,36	225	319	99	43,9
65	380,9	364,7	372,8	67,6	305,2	4,51	228	346	118	42,5
61	241,7	216,7	229,2	38,2	191,0	5,00	211	339	134	63,6
68	357,7	250,3	304,0	60,1	243,9	4,06	250	360	128	51,2
89	322,6	318,6	320,6	55,0	265,6	4,83	268	418	150	56,0
72	310,2	312,7	311,5	51,4	260,1	5,06	211	303	93	44,1
76	238,8	206,6	222,7	34,5	188,2	5,46	244	338	94	38,5
75	294,5	307,8	301,2	41,2	260,0	6,32	232	320	93	40,0
77	245,7	251,8	251,8	42,1	209,7	4,98	240	300	68	28,3
78	300,7	313,9	307,3	41,5	265,8	6,40	250	350	104	41,6
80	259,4	253,8	250,6	37,5	219,1	5,84	216	340	124	57,5
87	333,5	301,0	317,3	43,5	273,8	6,29	235	363	128	54,5
90	295,2	299,5	297,4	41,5	255,9	6,17	231	325	105	45,4
79	192,4	321,2	256,8	30,2	226,6	7,50	269	375	106	39,5
81	262,0	269,1	265,6	35,2	230,4	6,55	211	304	93	44,1
82	257,0	299,2	278,1	36,8	241,3	6,56	210	301	91	43,3
83	252,5	290,2	271,4	42,6	228,8	5,37	221	315	94	42,5
85	205,2	251,3	228,3	29,1	199,2	6,85	272	375	103	37,9
86	279,5	279,3	279,4	48,0	231,4	4,82	230	270	41	17,8
88	182,1	343,7	262,9	30,1	232,8	7,73	251	374	123	49,0

Tab. 10: Mittelwerte der Granulom- und Tiergewichte

Vers.- Gruppe	G fr	G t	Gfl	Q fl/t	TAG	TEG	TGZ	TGZ in % des TAG
N	317,3	56,7	260,9	4,68	234	355	126	52,8
ES	283,2	41,7	241,6	5,81	233	330	101	43,7
EF	263,1	36,0	227,2	6,48	238	331	93	39,2
ES/F	273,9	38,9	234,9	6,13	235	330	97	41,5
N/E	286,2	43,9	242,3		235	337	106	45,1
Median Z =		279,4	41,5					

Tab. 11: Mittelwertsdifferenzen der Granulom- und der Tiergewichte zwischen den Versuchsgruppen

	N-ES abso- lut	N-ES in % von N	N-EF abso- lut	N-EF in % von N	N-ES/F abso- lut	N-ES/F in % von N	ES-EF abso- lut	ES-EF in % von ES
G _{fr}	34,1	11	54,2	17	43,4	14	20,1	10
G _t	15,0	26	20,7	37	17,8	31	5,7	14
TGZ	25	20	33	26	29	23	8	8
Q _{fl/t}	1,13	24	1,80	39	1,45	31	0,67	12

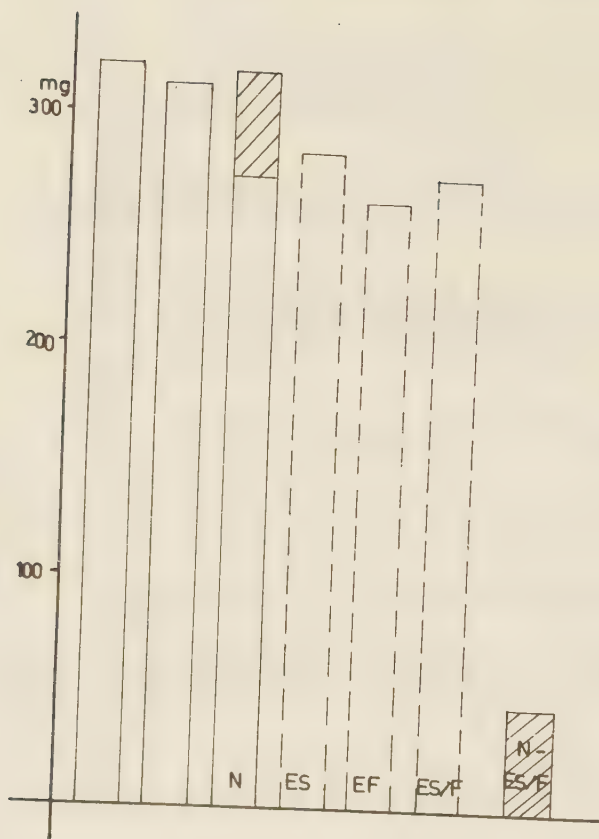


Abb. 6: Mittelwerte der Granulomfrischgewichte

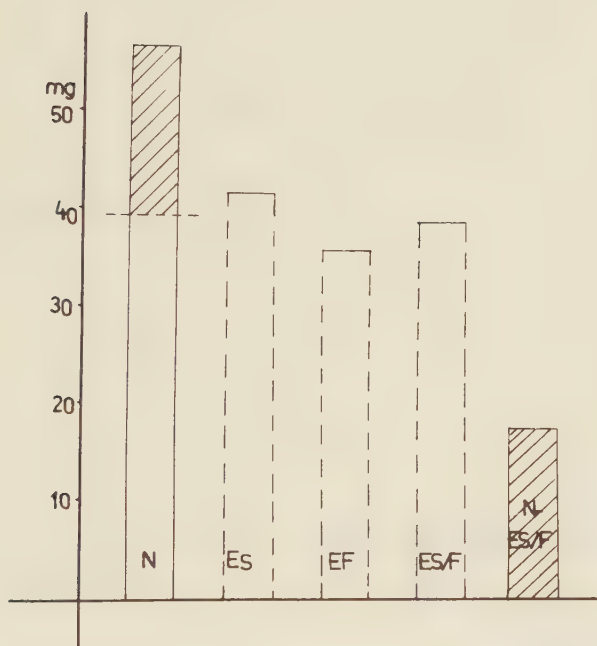


Abb. 7: Mittelwerte der Granulomtroekengewichte

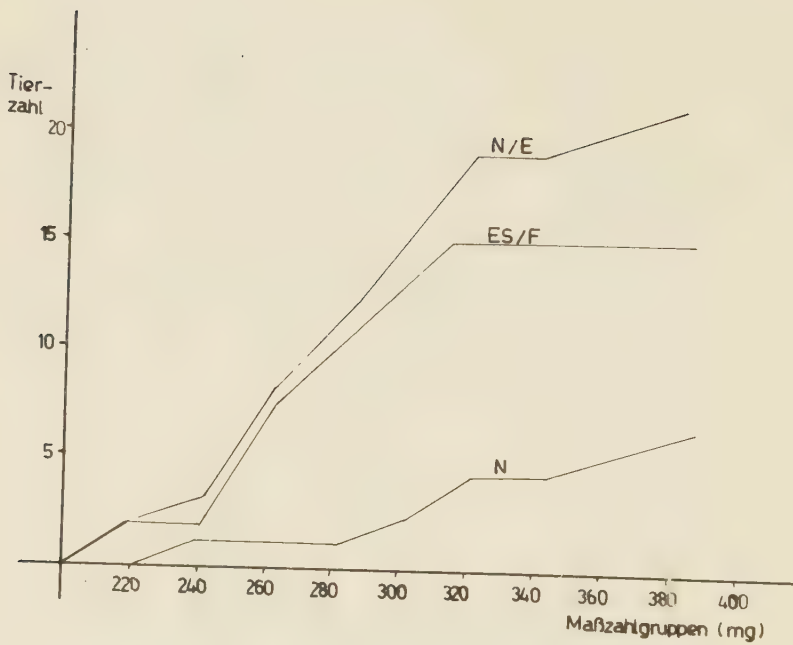


Abb. 8: Kumulative Häufigkeitsverteilung der Granulomfrischgewichte

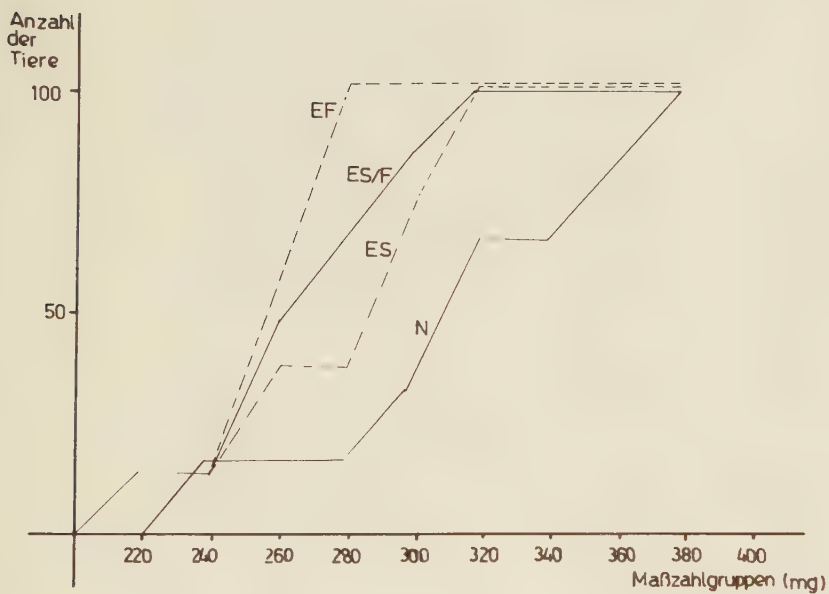


Abb. 9: Prozentuale kumulative Häufigkeitsverteilung der Granulomfrischgewichte

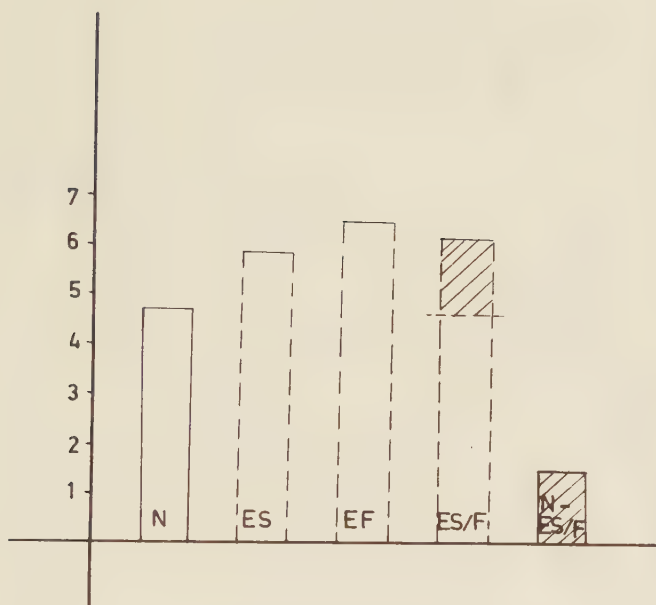


Abb. 10 Mittelwerte der Quotienten $G_{f1} : G_t$

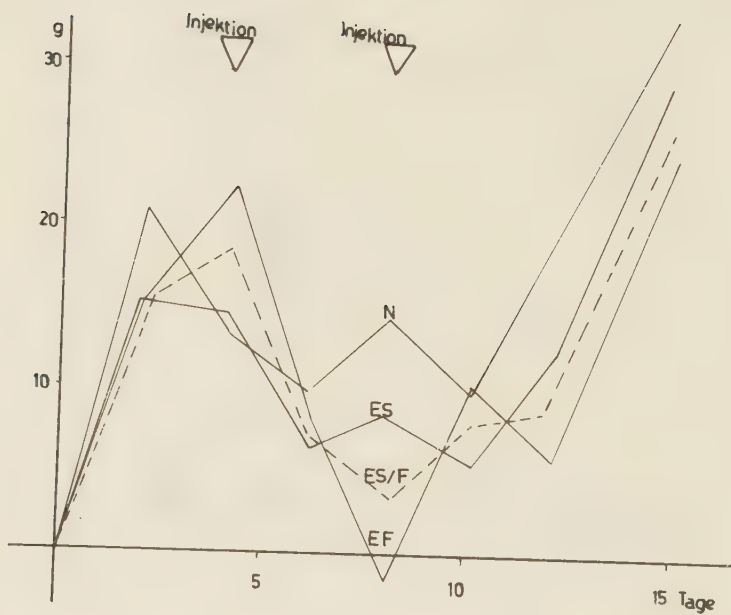


Abb. 11: Mittlere 2-tägige Gewichtszunahme der Tiere vom 1. - 14. Tag

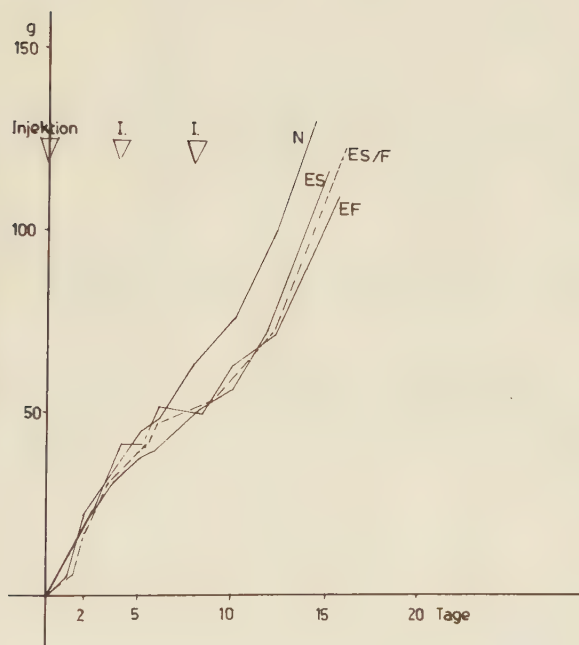


Abb. 12: Mittlere Gewichtszunahme der Tiere in 14 Tagen

Tab. 13: Mittlere 2-tägige Gewichtszunahme der Tiere vom 1. - 14. Tag

Gewichtszunahme	ES	EF	ES/F	N
1. u. 2. Tag	17	18	17	23
2. - 4.	16	24	20	15
4. - 6.	8	10	9	12
6. - 8.	10	-1	5	16
8. - 10.	7	12	10	12
10. - 12.	14	8	11	22
12. - 14.	27	22	25	31

Tab. 14: Mittlere Gewichtszunahme der Tiere in 14 Tagen

Gewichtszunahme bis zum	N	ES	EF	ES/F
1. Tag	5	3	7	5
2.	23	17	18	17
3.	-	-	-	-
4.	37	33	41	37
5.	45	38	41	40
6.	49	41	52	47
7.	-	-	-	-
8.	65	51	50	51
9.	-	-	-	-
10.	77	58	63	61
11.	-	-	-	-
12.	99	75	71	73
13.	-	-	-	-
14.	129	101	93	97

Tab. 15:

Dispersion der Granulomfrisch-, -trocken- und -flüssigkeitsgewichte sowie der Tiergewichtszunahme

	Standardabweichung σ	Varianz σ^2	Variabilitätskoeffizient $\sqrt{\sigma^2}$	Mittelwert und Standardabweichung
	Granulomfrischgewicht (G_{fr})			
N	46,9	2195	14,8	317,3 + 46,9
ES	32,4	1053	11,4	283,2 + 32,4
EF	16,1	260	6,1	263,1 + 16,1
ES/F	28,0	782	10,2	273,9 + 28,0
	Granulomtrockengewicht (G_t)			
N	10,3	106	18,2	56,7 + 10,3
ES	4,6	21	11,1	41,7 + 4,6
EF	6,6	44	18,3	36,0 + 6,6
ES/F	6,3	39	16,2	38,9 + 6,3
	Tiergewichtszunahme (TGZ)			
N	15,5	240	12,3	126 + 15,5
ES	17,9	319	18,7	101 + 17,9
EF	23,5	554	25,3	93 + 23,5
ES/F	21,3	453	22,0	97 + 21,3
	Granulomflüssigkeitsgewicht (G_{fl})			
N	37,1	1391	14,4	260,9 + 37,1
ES	29,3	860	12,3	241,6 + 29,3
EF	12,2	149	5,4	227,2 + 12,2
ES/F	22,9	529	9,8	234,9 + 22,9

Tab. 16: F-Test als Voraussetzung für den folgenden t-Test

	Errechneter F-Wert	Bei 5 % signifikanter F-Wert	Bei 1 % signifikanter F-Wert	Signifikanz im gerichteten F-Test	Im ungerichteten F-Test
Granulomfrischgewicht					
N - ES	2,2	3,97	7,46	> 5 %	> 10 %
N - EF	8,69	4,39	8,75	> 1 %	> 1 %
N - ES/F	3,2	2,96	4,69	> 1 %	> 5 %
ES - EF	4,0	4,21	8,26	> 5 %	> 10 %
Granulomtrockengewicht					
N - ES	5,3	3,97	7,46	> 1 %	> 5 %
N - EF	2,4	4,39	8,75	> 5 %	> 10 %
N - ES/F	3,0	2,96	4,69	> 1 %	> 5 %
ES - EF	2,2	3,87	7,19	> 5 %	> 10 %
Tiergewichtszunahme					
N - ES	1,3	4,88	10,45	> 5 %	> 10 %
N - EF	2,3	4,95	10,67	> 5 %	> 10 %
N - ES/F	1,7	4,64	9,79	> 5 %	> 10 %
ES - EF	1,8	3,87	7,19	> 5 %	> 10 %

Tab. 17: Varianzanalyse

Quelle d. Variation	Quadrat-summe	df	mittleres Quadrat	errechneter F-Wert	Bei 5 % signifikanter F-Wert	Bei 1 % signifikanter F-Wert	Signifikanz des errechneten F-Wertes
Granulomfrischgewichte							
Variation	8607	2	4304	3,19	3,55	6,01	> 5 %
zwischen	24333	18	1353				
innerhalb	32940	20					
total							
Granulomtrockengewichte							
zwischen	1406	2	703	10,61	3,55	6,01	< 1 %
innerhalb	1193	18	66,3				
total	2599	20					
Tiergewichtszunahme							
zwischen	3727	2	1864	4,27	3,55	6,01	> 1 %
innerhalb	7864	18	437				
total	11591	20					
Quotient Gf1 : Gt							
zwischen	10,61	2	5,32	8,72	3,55	6,01	< 1 %
innerhalb	10,18	18	0,61				
total	20,79	20					

Tab. 18:

Signifikanz der Mittelwertsunterschiede bei den Granulomfrisch- und -trockengewichten, bei der Tiergewichtszunahme und bei dem Verhältnis von Flüssigkeitsgewicht zu Trockengewicht.

	dt	G _{fr}	G _t	TGZ	Q _{fl/t}	Bei 5 % t-Wert signif.	Bei 1 % t-Wert signif.	Bei 5 % D _I -Wert signif.	Bei 1 % D _I -Wert signif.
N - ES signi- fikan- t bei	12	1,415	3,54	2,548	2,561	2,179	3,055	2,28	3,22
		> 10 %	< 1 %	> 2 %	> 2 %				
N - ES/F signi- fikan- t bei	19	2,480	4,532	2,843	3,560	2,093	2,861	2,20	3,00
		> 2 %	< 1 %	> 1 %	< 1 %				
D _N - EF signi- fikan- t bei	18	2,64	4,570	1,98	4,84	2,101	2,878	2,21	3,02
		> 1 %	< 1 %	> 5 %	< 1 %				

Tab. 19: Produkt-Moment-Korrelation zwischen Tiergewicht auf der einen Seite und Granulomfrisch- bzw. -trockengewicht bzw. Quotient $G_{fl} : G_t$ auf der anderen Seite.

	TGZ - G_{fr}	TGZ - G_t	TGZ - $Q_{fl/t}$
ρ	+ 0,27	+ 0,33	- 0,15
r	0,278	0,230	0,046
t	1,260	1,029	0,052

Signi-
fikanz
des er-
rechneten

t - Wertes >10 %

>10 %

-

Tab. 2o:

Wirkungen der beiden unabhängigen Variablen

- 1) Behandlungsart ($A_1 = N$; $A_2 = ES$; $A_3 = EF$)
 2) Tiergewichtsklasse ($B_1 = 228 - 269$ g; $B_2 = 210 - 231$ g)
 auf die Granulomfrisch- bzw. die Granulomtrockengewichte.
 (Varianzanalyse)

Signifikanz des
errechneten
F-Wertes

Bei 1 % signi-
fikanter F-Wert

Bei 5 % signi-
fikanter F-Wert

errechneter
F - Wert

df
Mittleres
Quadrat

Quadrat-
summe

Quelle der Varia-
tionen

Granulomfrischgewichte

Zwischen allen Gruppen	21833,1	5	4276,6	1,847	2,53	3,70	> 5 %
innerhalb aller "	69473,5	30	2315,8				
zwischen A	15556,0	2	7778,0	4,36	3,32	5,39	> 1 %
zwischen B	0,4	1	0,4	-			
Wechselwirkung A x B	5826,7	2	2931,4	1,26	3,32	5,39	> 5 %
total	90586,6	35					

Granulomtrockengewichte

Zwischen allen Gruppen	1270,0	5	254,0	3,35	2,53	3,70	> 1 %
innerhalb aller "	2274,2	30	75,8				
zwischen A	913,3	2	456,7	6,03	3,32	5,39	< 1 %
zwischen B	81,3	1	81,3	1,07	4,17	7,56	> 5 %
Wechselwirkung A x B	275,4	5	137,7	1,82	3,32	5,39	> 5 %
total	3544,2	35					

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ALEXANDROWICZ, J. : The curative properties of
nitrogen mustard (nitrogranu-
logen) in inflammatory diseases.
Sang 21, 330 - 339 (1950)

- 2 ALLGOWER, M. : Zum Thema der Granulationsge-
webebildung.
Symposium über die posttraumati-
sche Entzündung und ihre Behandlung.
Davos 1964, 20 - 21 (Karger, Basel/
New York 1965)

- 3 ALLISON, F.,
M.G. LANCASTER,
J.L. CROSTHWAITE : Studies on the pathogenesis of
acute inflammation.
Amer. J. Path. 43, 775 - 795 (1963)

- 4 D'ANGELO, A.,
J. CHIOVATO : Experimentelle Untersuchungen
über die Übertragung von hetero-
logem Knochenmark.
Arch. Atti Soc. Med.-Chir. Messina
6, 1 (1962)

- 5 ARNOLD, H.,
F. BOURSEAUX : Synthese des N,N - Bis - (2-Chlor-
äthyl)-O-(3-Amino-propyl)-
phosphorsäureamidesters.
Arzneim.-Forsch. 13, 927 - 928 (1963)

- 6 ASCHHEIM, E. : A new model of skin injury
Proc. Soc. exp. biol. Med.
109, 660 - 664 (1962)

- 7 ASCHHEIM, E. : Kinetic characterization of the
terminal vascular bed during
inflammation.
Amer. J. Physiol. 208, 270 - 274
(1965)

- 8 ASCHHEIM, E. : Rate of protein extravasation in
inflammation.
Amer. J. Physiol. 206, 327 - 330
(1964)

- 9 ASCHHEIM, E.,
B.W. ZWEIFACH : Quantitative studies of protein
and water shifts during inflam-
mation.
Amer. J. Physiol. 202, 554 - 558
(1962)

- 10 : Asta-Werke
Chemische Fabrik Brackwede (Westf)
Endoxan Sammelreferat Bd 4
169 - 172
- 11 BACARDI-NOGUERA, R.,
J.C. RODRIGUEZ-
FERRERA : Accion antiinflamatoria del W 1917
Med. clin. (Barc.) 45, 370 - 374
(1964)
- 12 BALLESTERO, L.,
C. RODRIGUEZ FONTELA : Tratamiento del Asma Bronquial
por Medico de la Mostaza Nitro-
genada.
Prensa med. Argent. 38, 3063 - 3072
(1951)
- 13 BEACH, V.L., B.G.
STEINETZ : Quantitative measurement of
Evans Blue space in the tissues
of the rat: Influence of
5-Hydroxytryptamine Antagonists
and Phenelzine on Experimental
Inflammation.
J. Pharmacol. exper. Therap. 131,
400 - 406 (1960)
- 14 BECKER, H., Y. KUDO,
H. ARGENTON, H. FISCHER: Cytologische Untersuchungen bei
der lokalen Entzündung.
Folia Haemat. 5, 91 - 138 (1961)
- 15 BENDITT, E.P. : Mechanism of inflammation.
Gastroenterology 40, 338 - 343
(1961)
- 16 BENITZ, K. - F.,
L.M. HALL : Local morphological response
following a single subcutaneous
injection of carrageenin in the rat.
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.
102, 442 - 445 (1959)
- 17 BIANCHI, V., G. GALLO: Erste Ergebnisse der Behandlung
des chronischen Gelenkrheumatismus
mit Cyclophosphamid.
Gazz. Int. Med. Chir. 67, 660
(1962)

- 18 BICKHARDT, R.,
H.J. HEITE : Vergleichende Untersuchungen
über die exsudationshemmende
Wirkung von Calcium und Strontium
am Eiweißödem der Rattenpfote.
Arch. exper. Path. 221, 393 - 398
(1954)
- 19 BRAUNSTEINER, H.,
K. FELLINGER,
H. KOLDER,
F. PAKESCH : Beziehungen im Wirkungsmechanismus
von Stickstofflost und ACTH.
Klin. Wschr. 30, 128 - 130 (1952)
- 20 BROCK, N. : Entwicklung und pharmakologische
Charakterisierung von Transport-
form-Wirkform-Substanzen für eine
selektive Chemotherapie des Krebses.
2. Internationales Symposium für
Chemotherapie Neapel 1963
III, 45 - 68
- 21 BROCK, N.,
H.-J. HOHORST : Über die Aktivierung von Cyclo-
phosphamid in vivo und in vitro.
Arzneim.-Forsch. 13, 1021 - 1031
(1963)
- 22 BRUNIUS, M.,
B. ZEDERFELDT : Die Beeinflussung der Wundheilung
durch entzündungshemmende Substan-
zen.
Symposium über die posttraumatische
Entzündung und ihre Behandlung.
Davos 1964, S. 39 - 46 (Karger,
Basel/New York 1965)
- 23 BUSH, J.E.,
R.W. ALEXANDER : An improved method for the essay
of anti-inflammatory substances
in rats.
Acta Endocr. 35, 268 - 276 (1960)
- 24 BUSSE GRAWITZ, P. : Der Entzündungsfaktor (Abbaufaktor)
ist über 2 400 Mal kleiner als Leu-
kozyten!
Graefe Arch. Ophthal. 163,
376 - 381 (1961)
- 25 CALNAN, J.,
A. DAVIES : The effect of methotrexate (ame-
thopterin) on wound healing:
an experimental study.
The Brit. J. of Cancer Vol XIX,

- 26 CALNE, D.B.,
S. LEIBOWITZ : Unterdrückung der experimentellen
allergischen Encephalitis durch
cytostatische Substanzen.
Nature 197, 1309 - 1310 (1963)
- 27 CANDIE, R.M.,
W.J. MENNIS,
C. MILLER : Effect of 6-mercaptopurine (6-MP)
on anti-body production.
Fed. Proc. 20, 26 (1961)
- 28 CLARK, W.G.,
E.M. MCKAY : Effect of epinephrine, antihista-
minics and adrenergic blockade of
eggs white edema in adrenal insuffi-
cient rats.
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 72,
510 - 515 (1949)
- 29 COHEN, Y.,
P. GOT : Pharmacodynamie-influence de la
température ambiante sur l'in-
flammation de la patte du rat
et sur l'effet anti-inflamma-
toire de la phénylbutazone.
C R Acad. Sci 253, 2421 - 2423
(1961)
- 30 CRUZ-AUNON : zit. n. Sammelreferat
Ärztliche Praxis 36, V (1953)
- 31 DAMMIN, G.J.,
S.C. BUKAUTZ : Modification of biologic response
in experimental hypersensitivity.
J. Amer. med. Assoc. 139, 358 - 362
(1949)
- 32 DOCUMENTA GEIGY : Probleme der Entzündung.
J. R. Geigy A.G., Basel (Schweiz)
1964
- 33 DOMENJOZ, R. : Pharmakotherapeutische Weiterent-
wicklung der Antipyretica-Antalge-
tica.
Arch. exper. Path. u. Pharmacol.
225, 14 - 42 (1955)

- 34 DOMENJOZ, R.,
K. MÜRS DORF,
E.G. STENGER,
W. THEOBALD : Der Einfluß der Narkose auf die
Wirkung von Natriumsalicylat und
Phenylbutazon (Butazolidin Geigy)
am experimentellen Pfotenödem der
Ratte.
Naunyn Schmiedeberg's Arch. exp.
Path. Pharmacol. 230, 325 - 324
(1957)
- 35 DORFMAN, RALP, J.,
A.S. DORFMAN : Antiinflammatory activity of
nonsteroidal agents in a rat
granuloma essay.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 119,
859 - 862 (1965)
- 36 DRUCKREY, H.,
D. STEINHOFF,
M. NAKAYANA,
R. PREUSSMANN,
K. ANGER : Experimentelle Beiträge zum
Dosis-Problem in der Krebs-Chemo-
therapie und zur Wirkungsweise
von Endoxan.
Dtsch. med. Wschr. 88, 651 - 663
u. 715 - 721 (1963)
- 37 EYRING, H.,
P.G. LEWIS : Kinin forming activity and hista-
mine in lymph after tissue injury.
J. Physiol. 169, 568 (1963)
- 38 ERLSBACHER, O.,
H. GEISBERGER,
A. POPS : Antientzündliche Therapie mit
Stickstofflost.
Die Medizinische 4, 166 - 169
(1956)
- 39 EYRING, H.,
Th.F. DOUGHERTY : Molecular mechanism in inflamma-
tion and stress.
Science Progr. (N. Haven)
10, 181 - 194 (1957)

- 40 FARHAT, S.M.,
D.C. WEEKS,
M.M. MUSSELMAN : Effect mechlorethamine hydro-
chloride (nitrogen mustard) on
healing of abdominal wounds.
Arch. Surg. 76, 749 - 753 (1958)
- 41 FLEISCHHACKER, H.,
H. DITTRICH : Die Behandlung der Polyarthritits
mit Stickstofflost.
Med. Klinik 46, 494 - 496 (1951)
- 42 FORMAN, C.,
J. SEIFTER,
W.E. EHRLICH : Effects of salicylates and other
drugs on experimental serum
disease.
Journal of allergy, 20, 273 - 285
(1949)
- 43 FORMANEK, K.,
H.J.A. HÖLLER,
F. STOKLASKA : Das Verhalten der Eiweißkörper im
Serum und in der Ödemflüssigkeit
bei Ratten mit Pfotenödem.
Arch. exp. Path. Pharm. 242,
228 - 237 (1961)
- 44 FRIMMER, M.,
F.W. MUELLER : Beeinflussung der Durchlässigkeit
von Blutkapillaren der Kaninchen-
haut für Makromoleküle durch lokale
chemische und physikalische Schä-
digungen des Gewebes.
Arch. exp. Path. Pharm. 243,
279 - 290 (1962)
- 45 GARCIA-CONDE-GOMEZ,
F.J., J. BIGUE PERTE-
GAZ, F. APARICIO
RICO : Asma Bronquial y Mostaza Nitroge-
nada.
Med. espan. 27, 419 - 425 (1952)

- 46 GILMAN, A.,
F.S. PHILIPS : The biological actions and therapeutic applications of the B-chloroethyl Amines and Sulfides. Science 103 (409 - 415) (1946)
- 47 GOLDFINGER, S.,
K.E. MEHNON,
M.E. WEBSTER,
A. SJOERDSMA,
J.E. SEEGLMÜLLER : The presence of a kinin-peptide in inflammatory synovial effusions. Arthritis and Rheumat. 1, 311 (1964)
- 48 GRAHAM, R.C.,
H.E. ROBERT,
O.D. RATUOFF,
J.M. MOSES : Pathogenesis of inflammation. II. In vivo observations of the inflammatory effects of activated Hageran-factor and Bradykinin. J. Exp. Med. 121, 807 - 818 (1965)
- 49 GROS, H. : Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Butazolidins. Klin. Wschr. 34, 181 - 184 (1956)
- 50 GROSS, F. : Zur Ausbildung und Beeinflussung der Ödembildung nach Injektion von Hühnereiweiß an der Ratte. Arch. exp. Path. u. Pharmakol. 211, 421 - 426 (1950)
- 51 GROSS, F. : Unspezifische Beeinflussung entzündlicher Reaktionen. Schweiz. med. Wschr. 80, 697 - 701 (1950)
- 52 GUBNER, R. : Therapeutic suppression of tissue reactivity. I. Comparison of the effects of cortisone and aminopterin. Amer. J. med. Sci. 221, 169 - 175 (1951)

- 53 GUSEK, W. : Neuere Ergebnisse und Aspekte zur Pathologischen Anatomie der Entzündung. Fortschr. Kiefer- u. Gesichtschirurgie Bd. IX 93 - 106 (1964)
- 54 HAMPERL, H. : Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie. Springer Verlag: Berlin Göttingen Heidelberg 1960
- 55 HARDESTY, W.M. : The effect of cytotoxic drugs on wound healing in rats. Cancer Res. 18, 581 - 584 (1958)
- 56 HEILMEYER, L., J. FREY, R. FISCHER : Einwirkung von TBI (Conteben) auf die Eiweiß-Hyperergie der Ratte. Arch. exp. Path. 213, 387 - 394 (1951)
- 57 HEILMEYER, L., V. HIEMEYER : Die Entzündung der Haut im Pyrexaltest (unter dem Einfluß entzündungshemmender Steroide sowie bei akuten und chronisch entzündlichen Erkrankungen). Dtsch. med. Wschr. 85, 102 - 104 (1960)
- 58 HEINLEIN, G. : Die Behandlung entzündlicher Veränderungen mit Korpuskularstrahlen. Wien. med. Wschr. 106 (B) 297 - 299 (1956)
- 59 HEITE, H.J., H. HÖLAND : Untersuchungen am Rattenpfotenödem über die Einflußgröße des peripheren Nervensystems auf Entzündungsvorgänge. Acta neurovegetativa XIII, 217 - 233 (1956) (Sonderdruck)
- 60 HEUSER, G. : Stress und Entzündung. Die Medizinische (Welt) 1, 13 - 17 (1954)

- 61 HILLEBRECHT, J. : Zur routinemäßigen Untersuchung antiphlogistischer Substanzen im Rattenpfotentest. Arzneimittelforsch. 4, 607 - 614 (1954)
- 62 HOPPE, J. : Der Einfluß verschiedener zytostatischer Substanzen auf die Granulationsgewebsbildung experimentell gesetzter Wunden. Verhandl. Dtsch. Ges. inn. Med. 68, 259 - 262 (1962)
- 63 HAUCK, J.C.,
R.A. JACOB : Connective tissue. II. Distant dermal collagen response to local inflammation. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 106, 145 - 147 (1961)
- 64 JANCSON, N. : Inflammation and the inflammatory mechanismus. J. Pharmacol. 13, 577 - 594 (1961)
- 65 JANCSON, N. : Rate of the nerve terminals in the mechanism of inflammatory reactions. Bull. Millard Fillmore Hosp. 7, 53 - 77 (1960)
- 66 JIMENEZ-DIAZ, C.,
A. MERCHANTE, J.
PERIONES, C. LAHOZ,
V.L. BARRANTES : Tratamiento del Asma con Mostaza nitrogenada y Consideraciones Derivadas sobre la Naturaleza de las Enfermedades Alérgicas y la Therapeutica de Disreaccion. Rev. clin. españ. 45, 153 - 158 (1952)

- 67 JIMENEZ-DIAZ, C.,
J. PERIONES,
A. MERCHANTE,
C. LAHOZ,
V. BARRANTES,
F. LAHOZ
: Primeros resultados del Tratamiento des Asma pertinaz con las Mostazas Nitrogenadas. Rev. clin. espan. 38, 122 - 123 (1950)
- 68 JUBIN, E.,
R. SCHIPPLI
: Die Behandlung der Psoriasis mit Cytostatica. Dermatologica (Basel) Vol. 132 (1966)
- 69 KAISER, G.A.,
F.G. HESTER,
J.R. MAHN,
A. DE METZ,
M.P. CAMPRIONE
: Effects of chemotherapeutic agents administered by isolated perfusion upon wound healing. Surgery 49, 745 - 750 (1961)
- 70 KOLOUCH, F.
: The lymphocyte in acute inflammation. Am. J. Path. 15, 413 - 428 (1939)
- 71 KLEIN, H.
: Zur Phasenbestimmung der lokalen Hühnereiweißentzündung: Ödemtest nach SELYE. Klin. Wschr. 548 - 549 (1951)
- 72 KLIMA, R.,
R. HORNISCHER
: Erfolge protrahierter N-Lost-Behandlung bei malignen Blutkrankheiten und Carcinomen. Med. Klinik 48, 514 - 516 (1953)

- 73 KÖCHLE, H.J.,
H. WEGENER : Quantitative Untersuchungen über
Wirksamkeit und Wirkungsstärke
entzündungshemmender Substan-
zen.
Zschr.ges.exper.Med. 118,
136 - 142 (1951)
- 74 LA PLANTE, E.S.,
R.M. CONDIE,
R.A. GOOD : Prevention of secondary immune
response with 6-mercaptopurine.
J. Lab. and Clin. med. 59 (4),
542 - 549 (1962)
- 75 LEGER, J.,
G. MASSON,
J.L. PRADO : Hypersensitivity to egg in rat.
Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.
64, 366 - 370 (1947)
- 76 LEONHARDI, G.,
M. ERDEMIR, F.,
F. HERRMANN : Methotrexatbehandlung von Der-
matosen.
Arch. klin. exp. Dermat. 227,
363 - 371 (1966)
- 77 LEVER, W.F. : Histopathologie der Haut.
Stuttgart: Gustav Fischer 1958
- 78 LIGHTOWLER, J.E.,
H.J. RYLANC : On the antiinflammatory activi-
ty of some substituted phenolic
compounds.
Brit. J. Pharmacol. 22, 221 -
227 (1964)
- 79 LUDEVIG, S.,
A. CHANUTIN : The chemical changes in rat
adrenals after injection of
betachlorethyl vesicants.
Endocrin. 38, 376 - 384 (1946)

- 80 MARCHESI, V.T. : The site of leucocyte emigration during inflammation. Quart. J. exp. Physiol. 46, 115 - 118 (1961)
- 81 MASSHOFF, W.,
W. HEINZEL,
G.D. v. ROM,
M. SIESSE : Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Urethan auf Phagocytose, Speicherung und Entzündung. Klin. Wschr. 26, 397 - 400 (1948)
- 82 MEIER, P.,
F. GROSS,
P. DESAULLES : Über die Bedeutung der Nebennieren und der Nebennierenrindensteroiden für den Ablauf entzündlicher Reaktionen. Klin. Wschr. 29, 653 - 663 (1951)
- 83 MENKIN, V. : Biochemische Gesichtspunkte der Entzündung. Die Medizinische 15, 557 - 561 (1956)
- 84 MENKIN, V. : Effect of adrenal cortex extract on capillary permeability. Amer. J. Physiol. 129, 691 - 697 (1940)
- 85 MEYER-ARENDT, J. : Über den Ablauf der serösen Entzündung. Arch. path. Anat. 323, 351 - 401 (1953)
- 86 MITTENECKER, E. : Planung und statistische Auswertung von Experimenten. Wien; Franz Deuticke 1964
- 87 MOSES, J.M.,
R.H. EBERT,
R.C. GRAHAM,
K.L. BRINE : Pathogenesis of inflammation. J. exp. Biol. 120, 57 (1964)

- 88 MÖRSDORF, K. : Zur Beeinflussung der Ascorbinsäureverteilung durch Anti-phlogistica.
Arch. int. pharmacodyn. 102,
249 - 265 (1955)
- 89 MUGLER, A.,
J.M. GRAPPE : Etude de l'action anti-inflammatoire de dérivés du colchique: cholchicine-colchicoside.
Path. Biol. 8, 2115 - 2027
(1960)
- 90 NIKULIN, A.,
J. FERLUGA,
P. STERN : Einfluß der Menge des Gewebe-Histamins auf den Entzündungsprozeß.
Acta medica Jugoslavica 16,
182 - 188 (1962)
- 91 NORTHOVER, B.J.,
G. SUBRAMANIAN : A study of possible mediators of inflammatory reactions in the mouse foot.
Brit. J. Pharmacol. 18, 346 - 355 (1962)
- 92 NORTHOVER, B.J.,
G. SUBRAMANIAN : Some inhibitors of histamine-induced and formaldehyde-induced inflammation in mice.
Brit. J. Pharmacol. a. Chemoth. 16, 163 - 169 (1961)
- 93 PAGE, A.T.,
R.M. CONDIE,
R.A. GOOD : Effect of 6-mercaptopurine on inflammation.
Amer. J. Path. 40, 519 - 530
(1962)
- 94 PAGE, A.R.,
R.A. GOOD : A clinical and experimental study of the function of neutrophils in the inflammatory response.
Amer. J. Path. 34, 645 - 669
(1958)

- 95 PARSONS, F.M.,
C. MARKLAND,
F. P. RAPER,
M. FOX : Transplantation einer Leichen-
niere.
Brit. Med. J. 1, 930 - 931
(1963)
- 96 PERREN, S.M. : Einfluß der Außentemperatur
auf die postoperative Schwel-
lung frischer Unterschenkel-
frakturen nach Skiunfällen.
Symposium über die posttrauma-
tische Entzündung und ihre
Behandlung.
Davos 1964, Karger, Basel/
New York 1965
- 97 PHILIPS, F.S.,
J.B. THIERSCH : The nitrogen mustard - like
actions of 2, 4, 6,-tris
(ethylen-imino) -S-triazine
and other bis (ethylenimines).
J. Pharmacol. a. exper. Therap.
100, 398 - 407 (1950)
- 98 RIGDON, R.H. : The mechanism of inflammation.
Edited by Jasmin u.A. Robert
Montreal: Acta, 125 - 132
(1953)
- 99 ROCHE E SILVA, M. : The participation of substances
of low molecular weight in
inflammation with special
reference to histamine and
bradykinin, in injury, in-
flammation and immunity.
L. Thomas, J.W. Uhr, L. Grant:
editors, Baltimore, Williams
and Wilkins 1964
- 100 ROCHE E SILVA, M.,
S.R. ROSENTHAL : Release of pharmacologically
active substances from the
rat skin in vivo following
thermal injury.
J. Pharmacol. 132, 110 - 116
(1961)

- 101 ROMERO, E.,
M. GANDARIAS : Dosification del ACTH en el
tratamiento con mostazas ni-
trogenadas.
Rev. clin. espan. 42, 239 -
242 (1951)
- 102 SALYAMON, L. : Inflammatory reactivity and
carcinogenesis.
Acta Un. Int. Cancr. 19,
552 - 554 (1963)
- 103 SCALTRINI, G.C.,
S. TOGNELLA,
S. CONIGLIARO,
V. GRIFONI : Bewertung der Spezifität der
antiproliferativen Pharmaka
N-Lost, Triäthylenmelamin und
Cyclophosphamid.
Haemat. lat. 4, 411 - 422
(1961)
- 104 SCHERER, E. : Biologische Grundlagen und
neuere Ergebnisse der Entzün-
dungsbestrahlung und funktio-
nellen Röntgentherapie.
Strahlentherapie 97, 349 - 361
(1955)
- 105 SCHNEIDER, R. : Das mit Hilfe der Deckglasmetho-
de gewonnene "Gewebsbild" unter
hohen N-Lost-Phosphamidester-,
Triäthylenimino- und Röntgen-
strahlendosen.
Strahlentherapie 122, 290 -
299 (1963)
- 106 SCHOETENSACK, W. : Über Pyrazolodine und ihre
pharmakologische Differenzie-
rung.
Arch. exp. Path. u. Pharmacol.
233, 365 - 375 (1958)
- 107 SCHULZ, K.H.,
D. PANTSCHERÉWSKI : Tierexperimentelle Untersuchun-
gen über die Beeinflussung
allergischer Phänomene durch
bakterielle Reizstoffe.
Acta allerg. 13, 269 - 278
(1959)

- 108 SCHWAB, L.,
F.C. MOLL,
Th. HALL,
H. BREAN,
M. KIRK,
C. v. ZANDT HANN,
Ch.A. JANEWAY : Experimental Hypersensitivity
in the rabbit.
J. exper. Med. 91, 505 - 526
(1950)
- 109 SCHARTZ, R.,
J. STACK,
W. DAMESHEK : Effect of 6-mercaptopurine on
antibody production.
Proc. Soc. exper. Biol. a. Med.
99, 164 - 167 (1958)
- 110 SCOTT, E.J.,
R. AUERBACH,
G.D.
WEINSTEIN : Parenteral Methotrexat in Pso-
riasis.
Arch. Derm. 89, 550 - 555
(1964)
- 111 ILLIG, L. : Die Morphogenese der Blutge-
fäßreaktion bei der Psoriasis
vulgaris (Capillar-Rekonstruk-
tion, Capillar-Mikroskopie,
experimentelles Koebner-Phäno-
men).
Arch. klin. exp. Derm. 227,
151 - 158 (1966)
- 112 SELYE, H. : Role of the quotient stress:
tissue in inflammation.
Arch. int. Pharmacodyn. 97,
379 - 388 (1954)
- 113 SELYE, H. : Stress.
Acta. Inc. Medical Publishers,
Montreal (Canada) 1950
- 114 SELYE, H. : Stress. The physiology and
pathology of exposure to sy-
stematic stress.
Acta physiologica Academiae
Scientiarum Hungaricae
Montreal 1950

- 115 SELYE, H. : Studies on adaption.
Endocrinology 21, 169 - 188
(1937)
- 116 SHELDON, W.H.,
H. BAUER : Tissue mastcells and acute
inflammation.
J. exp. Med. 112, 1069 - 1084
(1960)
- 117 SILVESTRINI, B.,
C. POZZATTI : Pharmacological properties
of 3-phenyl-5beta-diethylami-
noethyl-1,2,4-oxadiazole.
Brit. J. Pharmacol. 16, 209 -
217 (1961)
- 118 SMITH, L.W.,
L. MOLOMUT,
B. GOTTFRIED : Effect of subconvulsive au-
diogenic stress in mice on
terpentine induced inflamma-
tion.
Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.
103, 370 - 372 (1960)
- 119 SPECTOR, W.G.,
D.A. WILLIONGHBY : Suppression of increased
capillary permeability in
injury by monoamine oxidase
inhibitors.
Nature 186, 162 - 163 (1960)
- 120 SPEIRS, R.S.,
E.E. SPEIRS,
V. JANSEN : A quantitative approach to the
study of inflammatory cells.
Proc. Soc. exp. Biol. Med.
106, 248 - 251 (1961)
- 121 STALEY, CH.J.,
J.C. KUKRAL,
F.W. PRESTON : Wirkung von Karcinostatika auf
die experimentelle Wundhei-
lung.
Surg. Forum. 13, 35 - 36 (1962)
- 122 STERN, P. : Über Entzündung und Schmerz
in histaminfreier Haut.
Acta neuroveget. 18, 237 - 241
(1958)

- 123 STERN, P.,
A. NIKULIN,
J. PERLUGA
: The role of histamin and bradykinin in the inflammatory process.
Arch. int. Pharmacodyn. et Therap. 140, 528 - 538 (1962)
- 124 STRAKOSCH, E.A.
: A study of the folicacid antagonists in the treatment of psoriasis.
Dermatologica 126, 259 - 267 (1963)
- 125 TANAKA, A.,
F. KOBAYASHI,
T. MIYAKE
: A new anti-inflammatory activity test for corticosteroids. The formalin filterpaper pelled method.
Endocr. Jap. 7, 357 - 364 (1960)
- 126 TELLEZ, J.M.,
R. CH. RICHARD,
C.A. LARRAIN
: Tratamiento de la artritis reumatoide con mostaza nitrogenada.
Rev. clin. espan. 42, 377 - 382 (1951)
- 127 THEOBALD, W.,
R. DOMENJOZ
: Das Serotonin-Ödem an der Ratte und seine Beeinflussung durch Antiphlogistica.
Arzneimittelforschung 8, 18 - 19 (1958)
- 128 UNGAR, G.,
S. KOBRIN,
B. SEZESNY
: Measurment of inflammation and evaluation of antiinflammatory agents.
Arch. int. Pharmacodyn. 123, 71 - 77 (1959)
- 129 VARGA, F.,
J. MEHES,
A. PAR,
E. RONAI
: Beiträge zur Prüfung entzündungshemmender Substanzen.
Acta physiol. Acad. Scient. Hung. 23, 69 - 78 (1963)

- 130 VARTEREZ, V.,
G.J. KÜTELS,
F. ANTONI,
L.D. SZABO : Studies on the radiosensiti-
vity of mononuclear inflamma-
tory cells, in vitro.
Int. J. Rad. Biol. Vol 6 Nr 6
541 - 547 (1963)
- 131 VOGEL, W.,
M.L. MAREK : Rattenpfotenödem durch Poly-
vinylpyrrolidon und seine
pharmakologische Beeinfluss-
barkeit.
Arzneimittel-Forsch. 11, 356 -
362 (1961)
- 132 VAGIN, E.E.,
G.V. ROSSI,
G.D. CHASE,
A. OSOL : A radiometric method for the
quantitation of experimental
inflammation and anti-in-
flammatory activity.
Experientia 18, 191 - 192
(1962)
- 133 WALDBOTT, G.L. : Nitrogen Mustard in the treat-
ment of bronchial asthma.
Ann. Allergy 10, 428 - 432
(1952)
- 134 WILHELMI, E. : Prophylaktische und therapeu-
tische Applikation von Oxy-
phenbutazon, Resorzin,- Blut-
und Gewebekonzentrationen.
Symposium über die posttrau-
matische Entzündung und ihre
Behandlung.
Davos 1964, S. 62 - 67 (Kar-
ger, Basel/New York 1965)
- 135 WILHELMI, E. : Einfluß des Oxyphenbutazons
(Tanderil) auf proliferative
Vorgänge.
Symposium über die posttrauma-
tische Entzündung und ihre Be-
handlung.
Davos 1964, S. 22 - 29 (Kar-
ger, Basel/ New York 1965)

- 136 WILHELMI, G.,
R. DOMENJOZ : Die Beeinflussung des Hühner-
eiweißödems an der Ratten-
pfote durch Pyrazole sowie
Cortison und ACTH.
Arzneimittelforsch. 1, 151 -
154 (1951)
- 137 WILHELMI, G.,
R. DOMENJOZ : Vergleichende Untersuchungen
über die Wirkung von Pyrazolen
und Antihistaminen bei ver-
schiedenen Arten der experimen-
tellen Entzündung.
Arch. exper. Path. u. Pharmacol.
212, 125 - 127 (1950)
- 138 WILHELMI, D.L.,
P.J. MILL,
E.M. SPARRAW,
M.E. MACKAY,
A.A. MILES : Enzyme - like globulines from
serum reproducing the vascu-
lar phenomena of inflammation.
Brit. J. Exp. Path.
39 (3) 228 - 250 (1958)
- 139 WINDER, C.V.,
J. WAK,
L. SCOTTI,
R.A. SCHERRER : Anti-inflammatory, anti-pyre-
tic and anti-nociceptive pro-
perties of N- (2,3-xylyl) an-
theranilic acid (mefenamic
acid)
J. Pharmacol. Exp. Therap. 138,
405 - 413 (1962)
- 140 WINTER, C.A.,
E.A. RISLEY,
G.W. NUSS : Anti inflammatory and antipy-
retic activities of Indome-
thacin, 1-(p-chlorobenzoyl)-
5-methoxy-2-methyl-indole-3-
acetic acid.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 141,
69-376 (1963)
- 141 WITKOWSKI, G.A.,
A.M. KLIGMAN : A screening-test for antiin-
flammatory activity using
human skin.
J. Invest. Derm. 31, 481 - 483
(1959)

ANHANG

3.2.6. Histologische Befunde:

Die Untersuchung der Gewebegranulome erbrachte eine bereits mit bloßem Auge erkennbare Verbreiterung des Fremdkörpergranulationsmantels bei den Kontrolltieren gegenüber den Versuchstieren.

Bei der mikroskopischen Betrachtung zeigte sich, daß das Ausmaß der Gewebeneubildung, der Wucherung histiocytärer und kapillärer Elemente unter der Cyclophosphamid (Endoxan-) Behandlung deutlich vermindert ist.

LEBENS LAUF

Am 5. 2. 1941 wurde ich, Günter Burg, als drittes Kind und zweiter Sohn des Bundesbahnnamtmannes Peter Burg und seiner Ehefrau Maria, geb. Deutscher, in Mayen/Eifel geboren.

Von 1947 bis 1951 besuchte ich die Volksschule in Güls bei Koblenz und anschließend das Städtische Gymnasium in Koblenz, wo ich nach 9 Jahren das Zeugnis der Reife erwarb.

1960 begann ich mein Medizinstudium in Bonn und absolvierte dort nach Ende des 5. Semesters die ärztliche Vorprüfung.

Anschließend wechselte ich den Studienort und bestand 1966 die ärztliche Prüfung an der Marburger Philipps-Universität nach 6 klinischen Semestern.

Meine Medizinalassistentenausbildung gliedert sich in folgende Abschnitte:

- | | |
|---|----------|
| 1) Kinderklinik (Universität Marburg) | 3 Monate |
| 2) Pathologisches Institut (Universität Marburg) | 3 Monate |
| 3) Innere Medizin (St. Josefs-Krankenhaus, Dudweiler) | 6 Monate |
| 4) Chirurgie (St. Josefs-Krankenhaus, Dudweiler) | 5 Monate |
| 5) Geburtshilfe und Gynäkologie (Städt. Krankenhaus, Saarbrücken) | 4 Monate |
| 6) Dermatologie (Universitätshautklinik, Homburg) | 3 Monate |

Ende Juni 1968 habe ich beim Regierungspräsidenten in Kassel die Approbation beantragt.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren
und Dozenten:

in Bonn : BENNEWITZ
DANNEEL
DIRSCHERL
EGLI
HAGEN
JANKER
KESSLER
KLENSCH
KUHNKE
LEMENSICK
RIEZLER
ROHDEWALD
SCHMITZ-DUMONT
SCHUMACHER
STEUDEL
STÖHR
TONUTTI
TSCHESCHKE
WACHHOLDER

in Marburg : BECKMANN
BERENDES
BRAUN-FALCO
BUCHHOLZ
DÖLLE
DU MESNIL DE ROCHEMONT
EXNER
GEDIGK
HAMM
HARTMANN
HERRMANN
HEUSER
HILDEBRANDT
HORNUNG
JAKOB
LANG
LINNEWEH
LÖHR
LÜBBERS
MARTINI
MARX
NEUBAUER
OVERBECK
PETZOLDT

RASSNER
ROHEN
SALFELD
SAUER
SCHIFF
SCHMID
SCHLEYER
SCHÖLMERICH
SCHWAIGER
SIEGERT
SIESS
STENDER
STRAUB
STREICHER
WÜRTERLE

